Aus der II. Inneren Abteilung
des Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln
Chefärztin: Prof. Dr. Irene Boll

Die Wirkung von Retinoiden auf die Proliferation von menschlichem Knochenmark in vitro

Inauguraldissertation zur Erlangung der medizinischen
Doktorwürde an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Egbert Völkel
aus Sanderbusch
1995

UNIV.
LIBRARY
IOWA

Aus der II. Inneren Abteilung
des Städtischen Krankenhauses Berlin - Neukölln
Chefärztin: Prof. Dr. Irene Boll

Die Wirkung von Retinoiden auf die Proliferation von menschlichem Knochenmark in vitro

Inauguraldissertation zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde an den medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Egbert Völkel
aus Sanderbusch

Referent: Frau Prof. Dr. I. Boll

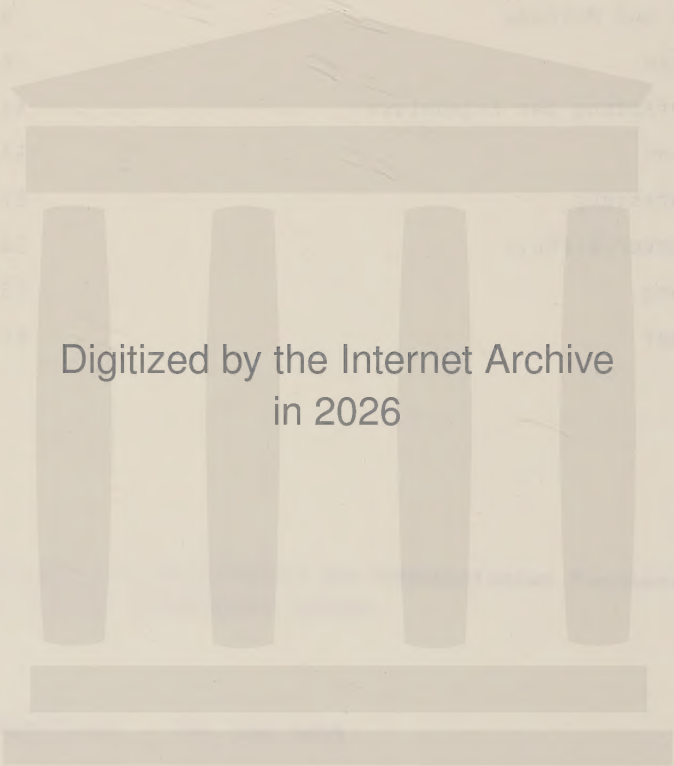
1. Korreferent: Herr Prof. Dr. D. Huhn
2. Korreferent: Herr Prof. Dr. Dr. G. Fuchs

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert: 28. Mai 1985

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	3
Fragestellung	8
Material und Methode	9
Ergebnisse	16
Zusammenfassung der Ergebnisse	44
Diskussion	54
Zusammenfassung	57
Literaturverzeichnis	58
Danksagung	65
Lebenslauf	66



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549619_0070

Einleitung

Retinoide leiten sich chemisch vom Vitamin A bzw. der Vitamin-A-Säure ab. Vitamin A entsteht aus seinen Provitaminen, den Karotinoiden. Es handelt sich um fettlösliche Pflanzenfarbstoffe, die nach Aufnahme mit der Nahrung in der Dünndarmwand in das eigentliche Vitamin A (Vitamin-A-Alkohol) überführt und als Palmitat in der Leber gespeichert werden (20).

Eine spezifische Rolle spielt das Vitamin A beim Sehvorgang. Vitamin-A-Mangel führt zur Störung der Dunkeladaptation durch mangelnde Bildung des Sehpigments Rhodopsin. Der Ausfall der Epithelschutzfunktion bei Hypovitaminose äußert sich in Hyperplasie und Hyperkeratose von Haut und Schleimhäuten. Die Haut solcher Patienten wirkt trocken. Schweiß- und Talgdrüsen Produktion sind eingeschränkt.

Akute Vitamin-A-Hypervitaminose führt zu Nausea, Kopfschmerzen und Erbrechen. Chronische Vitamin-A-Überdosierung manifestiert sich in Gewichtsverlust, Anorexie und zunehmender Lethargie. Die Haut wird trocken, rauh und irritabel. Die Lippen zeigen Symptome einer Cheilitis sicca mit Rhagadenbildung. Es kommt zu diffuser telogener Alopezie. Bei manchen Patienten treten Knochen- und Gelenkbeschwerden mit kortikalen Hyperostosen auf (4).

Im Körper wird Vitamin A zu Vitamin-A-Aldehyd und weiter zu Vitamin-A-Säure = all-trans-Retinsäure (Abb.1) oxydiert (20,58).

All-trans-Retinsäure ist eine Substanz mit vielfältigen Wirkungen auf proliferierende Gewebe, allerdings mit geringer therapeutischer Breite. All-trans-Retinsäure induziert funktionelle und morphologische Differenzierung von menschlichen Promyelozyten-Leukämiezellstämmen HL 60 zu reifen Granulozyten in vitro. Retinsäure erscheint in physiologischer Dosierung von 1 µ Mol/l als einer der wirksamsten Stoffe zur Ausdifferenzierung (16, 17, 18, 19). Auch monoblastische Leukämiezellstämme U 937 entwickeln sich zu reifen Zellen (45, 46).

Myeloische Leukämiezellkulturen von Mäusen können durch verschiedene Stoffe zu reifen Granulozyten und Makrophagen differenziert werden. Retinsäure hemmt diese Ausreifung. Ein zelluläres Retinsäurebindungsprotein wurde bei der Promyelozytenkultur, nicht jedoch bei der myeloischen Kultur gefunden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß ein Retinsäurebindungsprotein eine Voraussetzung ist zur Induktion der Differenzierung von Leukämiezellen (55). Retinsäure scheint verschiedene Effekte auf verschiedene Leukämieformen auszuüben.

Retinsäure stimuliert die Granulopoese von normalen myeloischen menschlichen Zellkulturen (22) und hemmt das Einzelzell-Wachstum von Promyelozytenleukämiezellen und akuter myeloblastischer Leukämiezellen (23).

Die beschriebene Fähigkeit der Retinsäure Promyelozytenleukämiezellkulturen zur Ausreifung zu bringen wird auch durch Zugabe von Chemotherapeutika wie Hydroxyharnstoff und Cytosinarabinosid nicht beeinträchtigt (26).

Außer auf blutbildende Zellen entfaltet Retinsäure auch antikanzerogene Aktivität auf andere Gewebe. Es wird berichtet, daß embryonale Karzinomzellen sich zu Entoderm entwickeln (53). Durch Kanzerogene erzeugte vermehrte DNS-Synthese wird gehemmt (37, 39). Es wird eine verstärkte Immunantwort hervorgerufen, die möglicherweise auf einer Stimulation von " T-killer-cells " beruht (21). Die in vitro Proliferation von Virus-transformierten lymphoblastoiden Zellen wird unterdrückt (1).

Zur Zeit wird all-trans-Retinsäure klinisch nur zur äußerlichen Behandlung in der Dermatologie verwendet.

Auf der Suche nach Retinoiden mit größerer therapeutischer Breite wurden zwei Derivate synthetisch hergestellt: Die 13-cis-Retinsäure (Roacutan^{R}) und das aromatische Retinoid (Tigason^{R}) (Abb.1).

13-cis-Retinsäure ist ein Stereoisomeres der all-trans-Retinsäure zur oralen Anwendung (Abb.1).

All-trans-Retinsäure und 13-cis-Retinsäure sind gleichermaßen in der Lage,menschliche Promyelozyten-Leukämiezellen, bestehend aus 90% Promyelozyten und akute myeloblastische Leukämiezellen zu morphologisch und funktionell reifen Granulozyten in vitro zu differenzieren (18, 23). Unter einer Konzentration von 0,3 µ Mol/l erhöht 13-cis-Retinsäure die Anzahl von Granulozyten-Makrophagen-Kolonien, entstanden aus normalen Knochenmarkzellen, in einer Agarkultur (24). Das aromatische Retinoid ist weniger wirksam.

Zahlreiche Wirkungen der 13-cis-Retinsäure werden beschrieben: Eine gesteigerte Phagozytose sowie eine Myeloperoxydase-abhängige zelltötende Funktion der Granulozyten wird beobachtet (34). Auch in vivo bestätigt sich die antiinflammatorische Wirkung (43). Über einen immunpotenzierenden Effekt in der IgE-Antikörper-Antwort (2) und eine Hemmung der DNS-Synthese in lymphoiden Zellen wird berichtet (44, 51). Die Fähigkeit von frischen menschlichen Melanomzellen, Kolonien in einer Agarkultur zu bilden, wird reduziert (40). Kutane T-Zell-Lymphome sprechen teilweise auf die orale Behandlung mit 13-cis-Retinsäure an (35).

Zur Zeit von wesentlicher klinischer Bedeutung in der Dermatologie ist der Effekt von 13-cis-Retinsäure, Talgdrüsen unter systemischer Therapie zu verkleinern (36, 50).

Folgende Hautkrankheiten sind durch 13-cis-Retinsäure zu beeinflussen: therapieresistente schwere Acne (Acne papulopustulosa, Acne conglobata) (14, 32, 41, 58) und schwere Formen der Rosazea (Rosazea papulopustulosa, Rosazea conglobata, Rhinophym) (14, 32, 42).

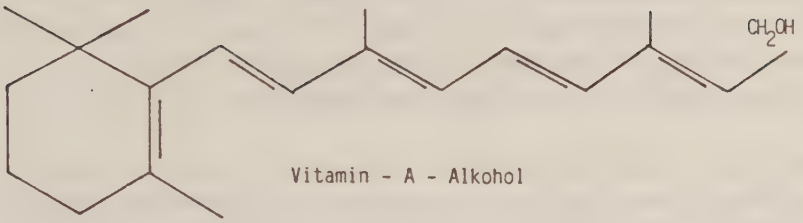
Das aromatische Retinoid hat ebenso wie die anderen Retinoide ein breites Wirkungsspektrum. Es hat einen antagonistischen Effekt auf Mitogene und hemmt die DNS-Synthese bei Lympho-

zytenkulturen (3, 44, 51). Mehrere Autoren berichten über antikanzerogene Eigenschaften (13, 15, 30, 32, 38, 40). Die Migration von neutrophilen Granulozyten vom Blut ins Gewebe und die chemotaktische Aktivität werden reduziert (4, 25). An der gesunden menschlichen Epidermis kommt es zur Proliferationssteigerung mit Stimulation der DNS-Synthese und Verkürzung des Generationszyklus (28). In der Haut des Psoriasiskranken werden Lymphozyten und Monozyten stimuliert, sich zu differenzieren (57). Es kommt zu einer Normalisierung abnormer Verhornungsvorgänge in der Epidermis, übermäßige Hyperkeratosen werden abgelöst (47, 49, 51).

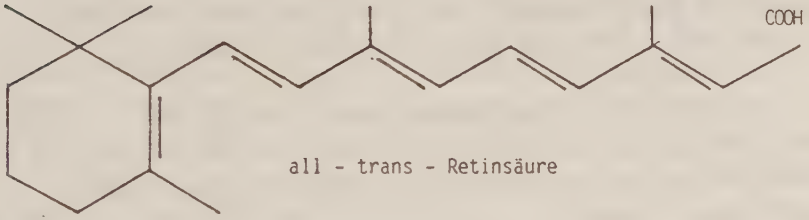
Zur Zeit wird aromatisches Retinoid zur Behandlung von schweren Formen der Psoriasis (Psoriasis pustulosa generalisata, psoriatische Erythrodermie, Psoriasis palmoplantaris, Psoriasis arthropathica) und bei anderen schweren Verhornungsstörungen (z. B. Ichthyosis, M. Darier) angewendet (14, 33, 47, 49, 58).

Die Nebenwirkungen beider synthetischer Retinoide sind dosisabhängig und entsprechen einer Vitamin-A-Hypervitaminose. Eine Erhöhung der Blutfette kann auftreten (29). Im Tierversuch kommt es zu reversibler Spermatogenesestörung (56). Beide Retinoide sind teratogen. Wirksame Plasmaspiegel des aromatischen Retinoids und seines Hauptmetaboliten wurden bis zu 140 Tage nach Absetzen der Therapie gefunden. Deswegen ist eine sichere, langfristige Kontrazeption unter der Behandlung erforderlich (14, 32, 33).

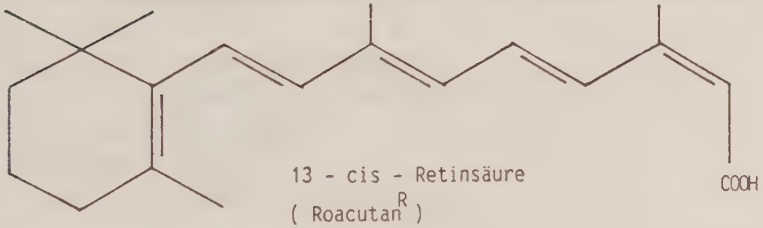
Abb.1 Chemische Formeln



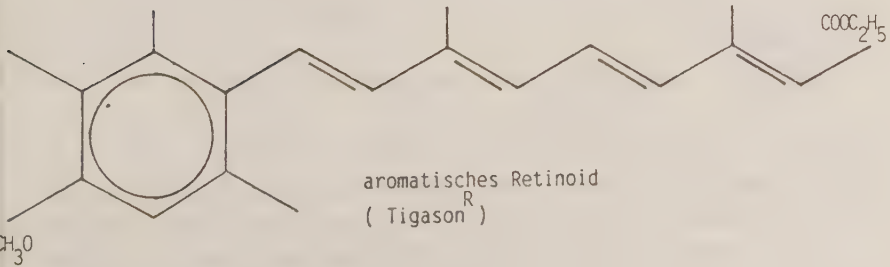
Vitamin - A - Alkohol



all - trans - Retinsäure



13 - cis - Retinsäure
(Roacutan^{R})



aromatisches Retinoid
(Tigason^{R})

Fragestellung

Insgesamt ist die Entwicklung der synthetischen Retinoide ein vielversprechendes Gebiet moderner Arzneimittelanwendung, offenbar mit theoretischen Anwendungsmöglichkeiten auf mehreren Bereichen der klinischen Medizin.

Diese Arbeit soll den Einfluß von synthetischen Retinoiden auf normale menschliche Knochenmarkzellen in vitro zeigen.

Durch unmittelbaren Vergleich von Zellzählungen mit und ohne Retinoid-Zusatz bei von uns angelegten Zellkulturen, können die Unterschiede in der Proliferationskinetik über einen Zeitraum von zehn Tagen dargestellt werden.

Die experimentelle Untersuchung befaßt sich mit der 13-cis-Retinsäure (Ro 4-3780), vorgesehener Handelsname Roacutan^{R} und mit dem aromatischen Retinoid (Ro 10-9359), Handelsname Tigason^{R}.

Aus Gründen der Übersichtlichkeit werden diese beiden Retinoide im Folgenden mit ihren Handelsnamen genannt.

Material und Methode

Für die nachfolgenden Versuche wurde Knochenmark ohne wesentlichen pathologischen Befund von vier Patienten verwendet. Die Patienten litten an Erkrankungen mit Verdacht auf eine Mitbeteiligung des Knochenmarks, der sich nicht bestätigen ließ.

Knochenmarkkultur (7):
Durch Sternal- oder Beckenkammpunktion gewonnene Markbröckel werden in heparinhaltige Hanks-Lösung gebracht. Mit Hilfe einer Passage durch Kanülen mit abnehmendem Durchmesser wird der fetthaltige Anteil verworfen und eine Suspension hergestellt (10). Die absolute Zellzahl wird in der (Schilling-) Zählkammer bestimmt. Für eine Einstellung des Ansatzes auf etwa 2000 (1000-3000) Zellen/µl wird mit RPMI 1640 Medium verdünnt.

Der Kontrollansatz enthält:
- 1,5 ml Zellsuspension in RPMI mit 200mg% Glukose und 200 mmol L-Glutamin
- 1,5 ml AB-Plasma

Der Ansatz mit Roacutan^{R} enthält:
- 1,5 ml Zellsuspension in RPMI mit 200 mg% Glukose und 200 mmol L-Glutamin
- 1,2 ml AB-Plasma
- 0,3 ml Roacutan^{R} - Endkonzentration 100 µmol/l

Der Ansatz mit Tigason^{R} enthält:
- 1,5 ml Zellsuspension in RPMI mit 200 mg% Glukose und 200 mmol L-Glutamin
- 0,7 ml AB-Plasma
- 0,8 ml Tigason^{R} - Endkonzentration 100 µmol/l

Die Ansätze werden in sterilen Einmalgefäßen im Brutschrank bei 37°C aufbewahrt. Die Gefäße sind luftdicht verschlossen, über der Suspension befindet sich eine relativ große Gasphase. Je Kulturtag werden mit Hilfe der Zytozentrifuge (500 U/min über 5 Min) drei Ausstriche angefertigt.

Die Originalpräparate (Ausgangswerte der Kulturen) werden zum Zeitpunkt 0 ohne Inkubation mit der Zytozentrifuge hergestellt.Die Präparate werden nach Pappenheim gefärbt.

Auswertung:
Je Kulturtag werden möglichst 2000 Zellen mit Hilfe des Ölimmersionsmikroskops ausgewertet. Die Differenzierung erfolgt nach Kriterien von BOLL (6, 9, 12) und UNDRITZ (59).

Die kernhaltigen Zellen der Erythropoese	(rote Reihe)
Proerythroblast	(PE)
basophiler Erythroblast	(bE)
polychromatischer Erythroblast	(pE)
oxyphiler Erythroblast	(oE)
reifer Erythroblast	(rE)
Die Zellen der Granulo- und Monopoese	(weiße Reihe)
Myeloblast (einschl. Monoblast)	(Mb)
Promyelozyt (einschl. Promonozyt)	(Prom)
Myelozyt (einschl. basophilen und eosinophilen Myelozyten)	(Myel)
Metamyelozyt	(Meta)
Stabkerniger	(Stab)
Segmentkerniger (einschl. basophilen und eosinophilen Segmentkernigen)	(Seg)
Monozyt (einschl. Makrophagen)	(Mono)
Lymphozyt	(Ly)

Die Zellen der Thrombopoese, des retikulohistiozytären Systems und die Plasmazellen werden wegen zu geringer Fallzahlen in den Tabellen und Schaubildern nicht aufgeführt.

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgt mit Hilfe von Kriterien der Proliferationskinetik (8).

Mitoseindex: Alle Mitosephasen von der Prophase bis zur Rekonstruktionsphase werden ins Verhältnis gesetzt zu den teilungsfähigen Vorstufen der Ruhezellen. Zu den teilungsfähigen Granuloblasten werden Myeloblasten, Promyelozyten

und Myelozyten gezählt. Die Bestimmung des Mitoseindex ergibt einen relativen Annäherungswert für die Zellverdoppelung, wenn die karyologische Kurve unverändert bleibt.

Reifungsindex: Das Verhältnis von teilungsfähigen Granuloblasten (Gb) zu nicht teilungsfähigen Granulozyten (Gz) ergibt den Reifungsindex. Zu den teilungsfähigen Granuloblasten werden Myeloblasten, Promyelozyten und Myelozyten gezählt. Metamyelozyten, Stabkernige und Segmentkernige entwickeln sich durch Kernreifung. Der Reifungsindex verkleinert sich bei der Ausreifung.

G / E Index: Angabe der Relation aller Zellen von Granulo- zu Erythropoese.

Reifungskurven: Es werden zwei Kurven dargestellt:
1. Die relativen Anteile der Granulopoese in Prozent.
2. Die absoluten Anteile der Zellen / µl.

Statistik (5):
Die Signifikanzberechnungen zwischen Kontroll- und Retinoid - kultur werden mit Hilfe des Vierfeldertests (chi^2) vorgenommen. Ein Beispiel möge das Vorgehen erläutern:

	Granuloblasten	Granulozyten	Summen
Kontrolle	2173	2645	4818
Roacutan	1894	2946	4840
	4067	5591	9658

Es ergibt sich hierbei ein Wert für die Prüfgrösse $chi^2=35,3$. Das bedeutet, daß die Warscheinlichkeit eines nur zufälligen Zustandekommens der Unterschiede $p < 0,001$ ist. In dieser Art wurden die Zellen der Granulopoese und die Lymphozyten an den einzelnen Kulturtagen geprüft.

Folgender Bewertungsmaßstab wird angewendet:

$chi^2 > 10,828$	$p < 0,001$	hochsignifikant	++
$10,828 > chi^2 > 6,635$	$p < 0,01$	signifikant	+
$6,635 > chi^2 > 3,841$	$p < 0,05$	zweifelhaft	(-)
$3,841 > chi^2$	$p > 0,05$	nicht signifikant	-

Knochenmarkkultur Nr. 1

Patient: K., Auguste, 74 Jahre
Klinische Diagnose: Chronische Lymphadenose
Sternalpunktat vom 7. 12. 1982
Bewertung:
Ausstriche: mittlere Zelldichte, fettreich
Retikulum-und Lymphopoese: Histiozyten = große Retikulumzellen normal, Knochenmarklymphozyten vermehrt, Blutlymphozyten stark vermehrt mit retikulärer Kernstruktur, 30% PAS diffus granulär, Plasmazellen vermindert
Granulopoese: normal, nicht verschoben, Peroxydase gut positiv, PAS gut positiv, Eosinophile vermehrt
Erythropoese: normal verteilt, normoblastisch, Eisenspeicherung in Histiozyten normal
Thrombopoese: Megakaryoblasten vorhanden, Megakaryozyten auch in allen Reifestufen
Diagnose:
Chronische Lymphadenose ohne wesentliche Verschiebung der Blutbildung.

Keine Medikamente zur Zeit der Sternalpunktion.

Blutbild vom 7. 12. 1982

Hb	147 g/l - 9,13 mmol/l
Hk	39,8%
Ery	4,75 T/l
Hb_E	31,0 pg - 1,93 fmol
Leuko	25,3 G/l
Thrombo	163 G/l
Seg	25 %
Ly	71%
Mono	4%

Knochenmarkkultur Nr. 2

Patient: B., Hedda, 55 Jahre
Klinische Diagnose: Non-Hodgkin-Lymphom (Kiel-Klassifikation: Zentroblastisch / Zentrozytisch) von niedriger Malignität im Stadium II, supradiaphragmal.
Beckenkammpunktat vom 24. 1. 1983
Bewertung:
Ausstriche: zellreich, mittlerer Fettgehalt
Retikulum-und Lymphopoese: ca. normal, phagozytierende Histiozyten vorhanden, Knochenmarklymphozyten vermindert, Blutlymphozyten vermindert, Plasmazellen vermindert, in der Esterasefärbung einzelne Zentroblasten
Granulopoese: normal,nicht verschoben, Peroxydase gut positiv, Eosinophile normal
Erythropoese: wenig vermehrt, normoblastisch, Eisenspeicherung in Histiozyten normal
Thrombopoese: Megakaryoblasten vermehrt, Megakaryozyten in allen Reifestufen, übersegmentierte Megakaryozyten, basophile Riesenformen, PAS gut positiv
Diagnose:
Kein Hinweis für Knochenmarkbefall durch zentroblastisch / zentrozytisches Lymphom; auffällige, pathologische Megakaryopoese.

Keine Medikamente zur Zeit der Beckenkammpunktion.

Blutbild vom 24. 1. 1983

Hb	135 g/l - 8,83 mmol/l
Hk	38,9%
Ery	4,72 T/l
Hb_E	28,5 pg - 1,77 fmol
Leuko	4,8 G/l
Thrombo	128 G/l
Seg	68%
Ly	27%
Mono	5%

Knochenmarkkultur Nr. 3

Patient: P., Erich, 76 Jahre
Klinische Diagnose: Verdacht auf Hämangiom links parieto-occipital, spinale Ataxie unklarer Genese, Polyneuropathie, Diabetes mellitus
Sternalpunktat vom 24. 1. 1983
Bewertung:
Ausstriche: mittlere Zelldichte, mittlerer Fettgehalt
Retikulum-und Lymphopoese: Histiozyten = große Retikulumzellen normal, Knochenmarklymphozyten normal, Blutlymphozyten normal, keine Prolymphozyten, keine Lymphoblasten, Plasmazellen normal
Granulopoese: normal, nicht verschoben, Peroxydase gut positiv, PAS gut positiv, Eosinophile normal
Erythropoese: normal, nicht verschoben, normoblastisch, (Erythroblasten nicht PAS positiv) keine Eisenspeicherung in Histiozyten
Thrombopoese: Megakaryozyten in allen Reifestufen
Diagnose:
Normales Knochenmark

Medikamente zur Zeit der Sternalpunktion:
70 E Depot Insulin Höchst^{R} / die
1 Tabl. Novodigal^{R} (beta-Acetyldigoxin 0,2 mg) / die

Blutbild vom 24. 1. 1983

Hb	180 g/l - 11,2 mmol/l
Hk	53,5%
Ery	6,58 T/l
Hb_E	27,3 pg - 1,70 fmol
Leuko	6,1 G/l
Thrombo	165 G/l
Seg	50%
Stab	3%
Ly	40%
Mono	4%
Eos	1%
Baso	2%

Knochenmarkkultur Nr. 4

Patient: N., Hans-Jürgen, 73 Jahre
Klinische Diagnose: Zustand nach Schrittmacherimplantation, Diabetes mellitus, Zustand nach Billroth II, Hepatopathie M. Parkinson, Verdacht auf Lymphom
Beckenkammpunktat vom 25. 2. 1983
Bewertung:
Ausstriche: zellreich, fettarm
Retikulum-und Lymphopoese: Histiozyten = große Retikulumzellen normal, Knochenmarklymphozyten normal, PAS granulär positiv, Blutlymphozyten normal, Plasmazellen normal
Granulopoese: wenig vermindert, nicht verschoben, Myelozyten und Segmentkernige gut Peroxydase positiv, PAS gut positiv, Eosinophile normal
Erythropoese: wenig vermehrt, nicht verschoben, wenig Megaloblastoide, (Erythroblasten nicht PAS positiv), keine Eisenspeicherung in Histiozyten
Thrombopoese: Megakaryoblasten vorhanden, reichlich Megakaryozyten in allen Reifestufen, PAS gut positiv
Diagnose:
Geringe quantitative Verminderung der Granulopoese, geringe quantitative Vermehrung der Erythropoese mit Megaloblastoiden, kein Anhalt für Lymphombesiedlung.

Medikamente zur Zeit der Punktion:
1 Tabl. Euglucon^{R} (Glibenclamid 3,5 mg) / die
3 x 1 Kaps. Maycor ret.^{R} (Isosorbiddinitrat 20 mg)/ die
1/4 Tabl. Sormodren^{R} (Bornaprin-HCl 1mg) / die
1 Tabl. Lanicor^{R} (Digoxin 0,25 mg) / die
1 Tabl. Moduretik^{R} (Amilorid-HCl 5 mg, Hydrochlorothiazid 50 mg) / die

Blutbild vom 25. 2. 1983

Hb	126 g/l - 7,82 mmol/l	Leuko	8,3 G/l
Hk	37,1%	Seg	58%
Ery	3,96 T/l	Stab	10%
Hb_E	31,5 pg - 1,96 fmol	Eos	2%
Thrombo	92 G/l	Ly	30%

Ergebnisse

Beschreibung der Knochenmarkkultur Nr. 1 mit Roacutan^{R} im Vergleich zur Kontrolle:

Absolute Zellzahl: Abnahme über alle Kulturtage (Abb.3, Tab.3)

Granulopoese (Abb.2, Abb.3, Tab.3):
Myeloblasten: Abnahme bis zum 6. Tag
Promyelozyten: Abnahme bis zum 3. Tag, ab 6. Tag Zunahme
Myelozyten: Abnahme bis zum 3. Tag, ab 6. Tag Zunahme
Metamyelozyten: Abnahme über alle Kulturtage
Stabkernige: Zunahme am 1. Tag, Abnahme ab 6. Tag
Segmentkernige: Zunahme am 1. und 10. Tag, Abnahme am 6. und 8. Tag
Monozyten: Abnahme am 3. Tag, Zunahme am 10. Tag
Mitoseindex der Granulopoese: etwa gleiche Anzahl der Mitosen, am 8. und 10. Tag keine Mitosen in beiden Kulturen (Tab.1)
Reifungsindex: am 1. und 3. Tag etwas kleiner, am 6. und 8. Tag fast verdoppelt, am 10. Tag noch deutlich größer (Tab.1)

Lymphopoese: Zunahme der Lymphozyten am 1. Tag, Abnahme am 3.-10. Tag (Abb.3, Tab.3)

Erythropoese: absolute Abnahme über alle Kulturtage, kaum Mitosen in beiden Kulturen (Abb.3, Tab.3)

G / E Index: bis zum 8. Tag etwa gleich, am 10. Tag fast verdoppelt (Tab.1)

Insgesamt ergibt sich in der Granulopoese unter Roacutan^{R} an den ersten Kulturtagen eine Abnahme der unreifen Zellen zugunsten der reifen Zellen. Am 10. Kulturtag finden sich vermehrt Segmentkernige und Monozyten.

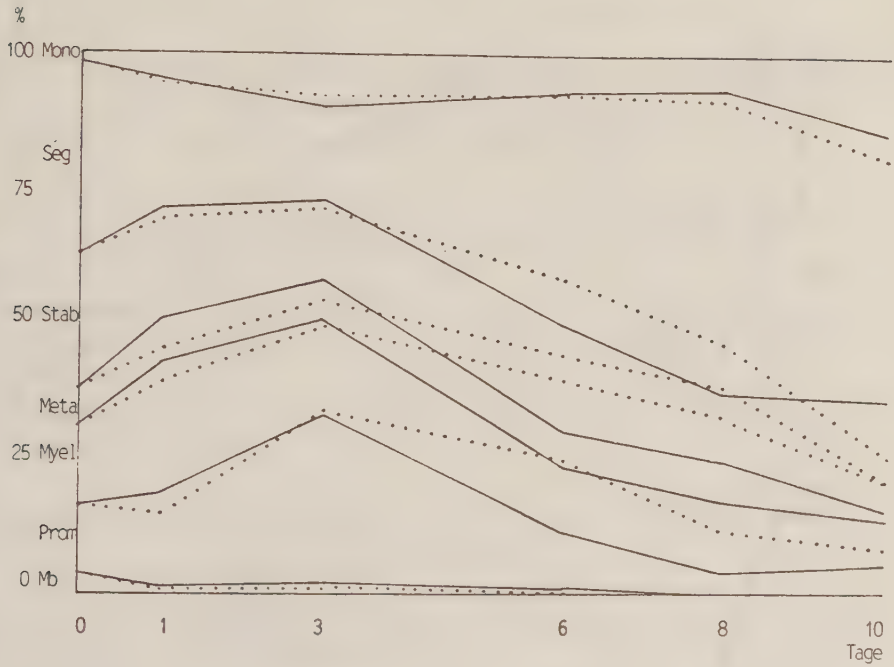
Knochenmarkkultur Nr. 1

Granulopoese - relative Anteile

Abb.2

Kontrolle ————————

Roacutan^{R} ·····

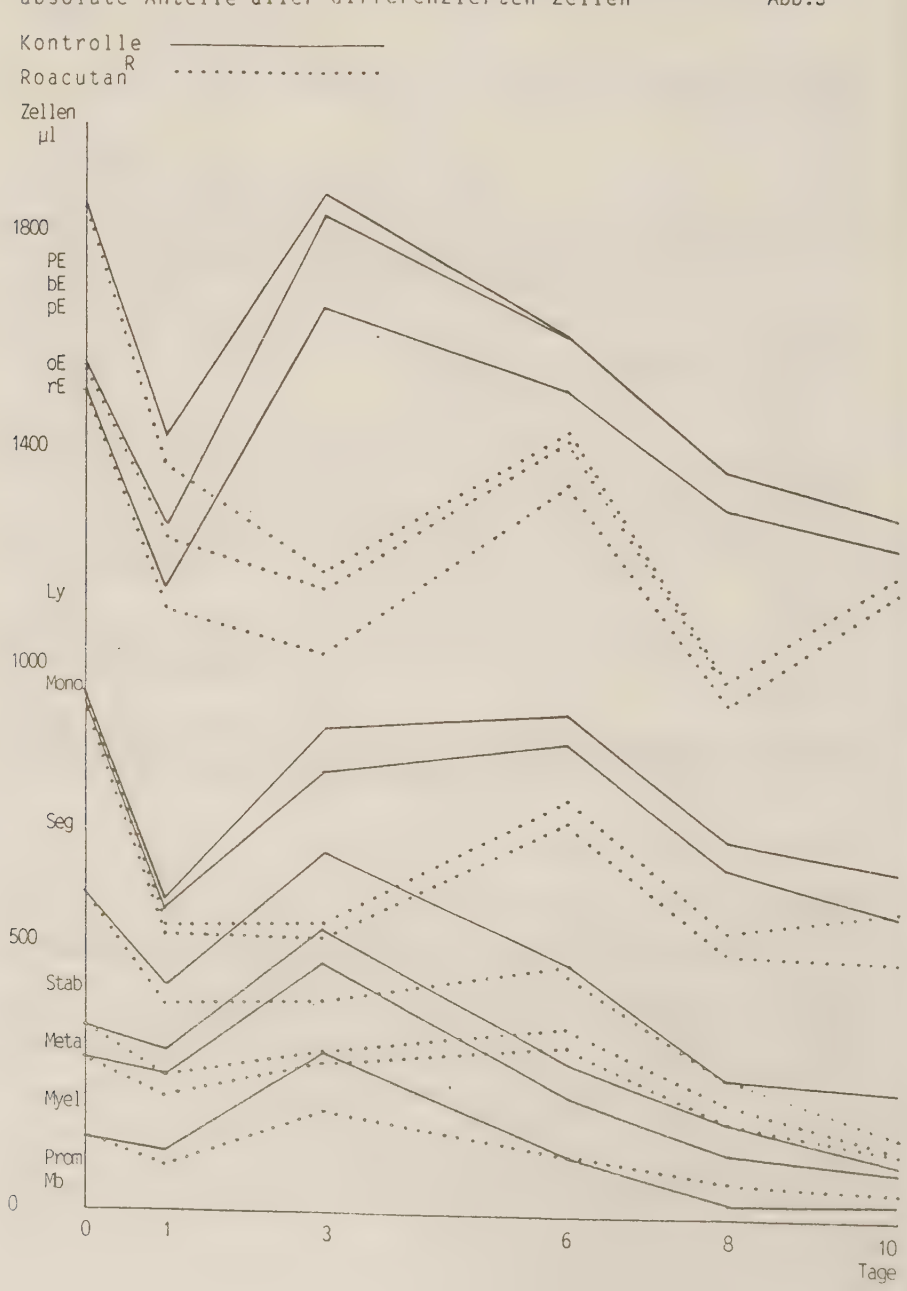


Tab.1

Kulturtage	Org	1	3	6	8	10
Mitoseindex Kontrolle ‰	12,0	12,3	13,6	7,33		
Mitoseindex Roacutan ‰		12,3	13,6	8,8		
Reifungsindex Kontrolle	0,54	1,04	1,41	0,43	0,33	0,18
Reifungsindex Roacutan		0,88	1,26	0,82	0,64	0,28
G / E Kontrolle	2,72	2,07	4,38	8,36	9,55	11,9
G / E Roacutan		2,24	3,53	8,2	11.3	20,7

Knochenmarkkultur Nr.1

absolute Anteile aller differenzierten Zellen Abb.3



Beschreibung der Knochenmarkkultur Nr. 1 mit Tigason^{R} im Vergleich zur Kontrolle:

Absolute Zellzahl: Abnahme über alle Kulturtage (Abb.5, Tab.3)

Granulopoese (Abb.4, Abb.5, Tab.3):
Myeloblasten: Abnahme bis zum 6. Tag, am 8. und 10. Tag keine Myeloblasten mehr in beiden Kulturen
Promyelozyten: Abnahme bis zum 3. Tag, Zunahme am 8. und 10. Tag
Myelozyten: Zunahme am 8. Tag, an den anderen Tagen etwa gleich
Metamyelozyten: Abnahme am 1. und 3. Tag, Zunahme am 8. Tag
Stabkernige: relative Zunahme am 3. Tag, Abnahme am 6. und 10. Tag
Segmentkernige: relative Zunahme vom 1.- 6. Tag, absolut an diesen Tagen wenig Veränderung, Zunahme am 10. Tag
Monozyten: Zunahme am 8. und 10. Tag
Mitoseindex der Granulopoese: am 1. und 3. Tag wenig Unterschied, am 6. Tag halbiert, am 8. und 10. Tag keine Mitosen in beiden Kulturen (Tab.2)
Reifungsindex: am 3. Tag deutlich kleiner, am 8. Tag deutlich vergrößert (Tab.2)

Lymphopoese: Abnahme der Lymphozyten an allen Kulturtagen (Abb. 5, Tab.3)

Erythropoese: Abnahme am 1. Tag, geringe Abnahme vom 3.- 10. Tag, keine Mitosen in beiden Kulturen

G / E Index: bis zum 8. Tag wenig Unterschied, am 10. Tag deutlich größer

Insgesamt nehmen unter Tigason^{R} in den ersten Kulturtagen Promyelozyten, Myeloblasten und Metamyelozyten ab zugunsten von Stab- und Segmentkernigen. Am 10. Kulturtag finden sich viele Segmentkernige.

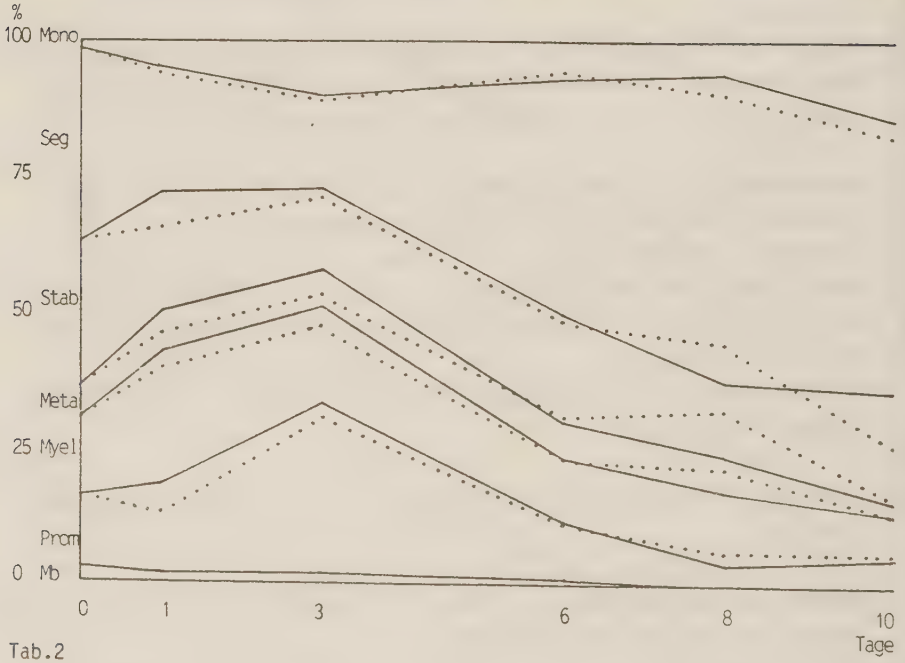
Knochenmarkkultur Nr.1

Granulopoese - relative Anteile

Abb.4

Kontrolle ————————

Tigason® ····· ····· ·····



Tab.2

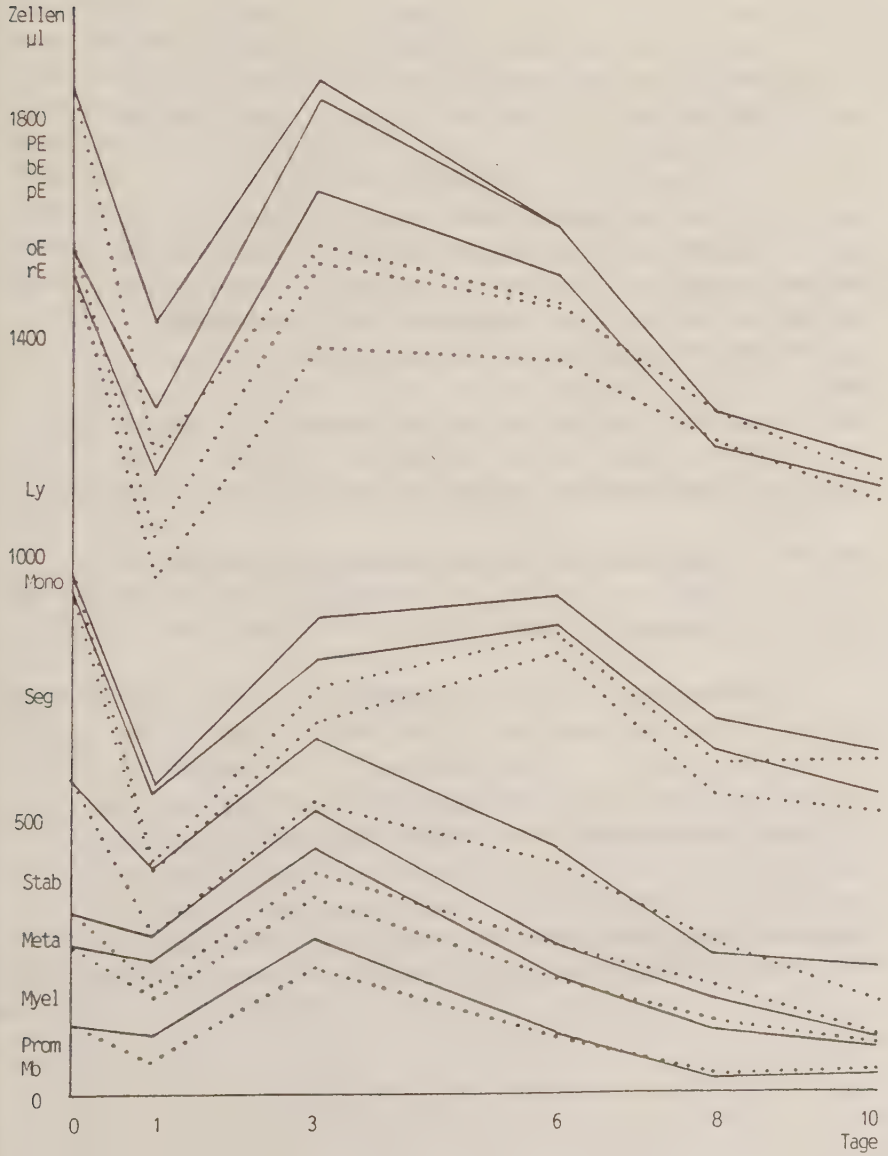
Kulturtage	Org	1	3	6	8	10
Mitoseindex Kontrolle ‰	12,0	12,3	13,6	7,33		
Mitoseindex Tigason ‰		9,9	14,8	3,66		
Reifungsindex Kontrolle	0,54	1,04	1,41	0,43	0,33	0,18
Reifungsindex Tigason		1,14	1,19	0,48	0,48	0,20
G / E Kontrolle	2,72	2,07	4,38	8,36	9,55	11,9
G / E Tigason		1.89	3,94	7,94	9,95	16,5

Knochenmarkkultur Nr.1

absolute Anteile aller differenzierten Zellen Abb.5

Kontrolle ——————

Tigason^{R} ·····



Knochenmarkkultur Nr. 1

absolute Anteile Zellen / µl Tab.3

	Kontrolle						Roacutan^{R}					Tigason^{R}				
Tage	0	1	3	6	8	10	1	3	6	8	10	1	3	6	8	10
PE	12	9	5				6	2				9	2			
bE	34	9	5				10	2				12	5			
pE	252	144	22	11	3		117	26	14			129	26	12	2	1
oE	12	56	71	26	10	3	66	61	27	17	8	36	67	27	22	2
rE	39	56	98	72	58	50	33	58	51	22	19	42	89	67	37	34
Summe	349	274	201	109	71	53	232	149	92	39	27	228	189	106	61	37
Mb	22	9	18	11			5	6	6			3	13	4		
Prom	109	97	272	95	28	35	74	179	107	64	49	56	219	97	36	38
Myel	142	139	159	110	88	51	130	85	193	110	71	117	129	107	95	51
Meta	61	44	67	57	51	10	34	23	34	28	4	26	44	65	65	13
Stab	254	124	135	182	84	132	130	92	107	43	23	89	134	149	77	63
Seg	347	136	151	399	382	319	131	113	267	235	317	125	140	388	280	350
Mono	16	17	79	57	45	85	15	28	41	38	96	16	66	32	54	97
Summe	951	566	881	911	678	632	519	526	755	518	560	432	745	842	607	612
Ly	550	577	782	601	615	591	618	494	581	417	579	516	628	513	591	481
Summe abs.	1850	1450	1900	1650	1400	1300	1400	1200	1500	1000	1200	1200	1600	1500	1300	1150

relative Anteile %

	Kontrolle						Roacutan^{R}					Tigason^{R}				
Tage	0	1	3	6	8	10	1	3	6	8	10	1	3	6	8	10
Mb	3,3	1,5	2,0	1,2			0,9	1,0	0,8				1,6			
Prom	11,8	16,9	30,7	10,4	4,1	5,5	14,0	33,0	14,0	12,0	8,6	12,8	28,9	11,4	5,9	6,1
Myel	14,8	24,1	17,9	12,0	12,9	8,0	24,4	15,8	25,0	21,1	12,5	26,8	17,0	11,9	15,6	7,6
Meta	6,2	7,6	7,5	6,3	7,5	1,5	6,3	4,3	4,5	5,4	0,8	6,0	5,7	7,7	10,6	2,1
Stab	26,0	21,5	15,0	19,8	12,4	20,6	24,0	17,0	14,0	8,2	4,2	20,0	17,7	17,5	12,6	10,2
Seg	36,3	23,5	17,0	44,0	56,9	49,9	24,7	21,0	34,8	45,0	56,0	28,6	18,5	45,8	45,3	56,5
Mono	1,6	4,9	8,9	6,3	6,2	14,5	6,7	4,9	6,9	8,3	18,7	5,8	10,6	5,7	10,0	17,5

Beschreibung der Knochenmarkkultur Nr. 2 mit Roacutan^{R} im Vergleich zur Kontrolle:

Absolute Zellzahl: Abnahme am 2. und 4. Tag, gleichbleibend am 7. und 9. Tag (Abb.7, Tab.6)

Granulopoese (Abb.6, Abb.7, Tab.6):
Myeloblasten: Abnahme über alle Kulturtage
Promyelozyten: Abnahme am 4. und 9. Tag, am 2. und 7. Tag etwa gleichbleibend
Myelozyten: absolute Abnahme am 2., 4. und 9. Tag, relative Abnahme am 7. Tag bei geringer absoluter Zunahme
Metamyelozyten: Zunahme an allen Kulturtagen
Stabkernige: Abnahme am 2. Tag, Zunahme am 7. Tag
Segmentkernige: absolut Abnahme am 2. und 4. Tag, dann Zunahme, relativ Zunahme über alle Kulturtage
Monozyten: 2. und 4. Tag etwa gleichbleibend, am 7. und 9. Tag Zunahme
Mitoseindex der Granulopoese: am 2. und 4. Tag deutlich kleiner, am 7. und 9. Tag keine Mitosen in beiden Kulturen (Tab.4)
Reifungsindex: am 4. und 9. Tag kleiner, etwa gleich am 2. und 7. Tag (Tab.4)

Lymphopoese: Anzahl der Lymphozyten am 2. und 4. Tag gleichbleibend, am 7. und 9. Tag Abnahme (Abb.7, Tab.6)

Erythropoese: absolute Abnahme der Zellen der roten Reihe am 2., 4. und 9. Tag, Zunahme am 7. Tag, wenig Mitosen in beiden Kulturen (Abb.7, Tab.6)

G / E Index: bis zum 7. Tag etwa gleich, am 9. Tag deutlich größer

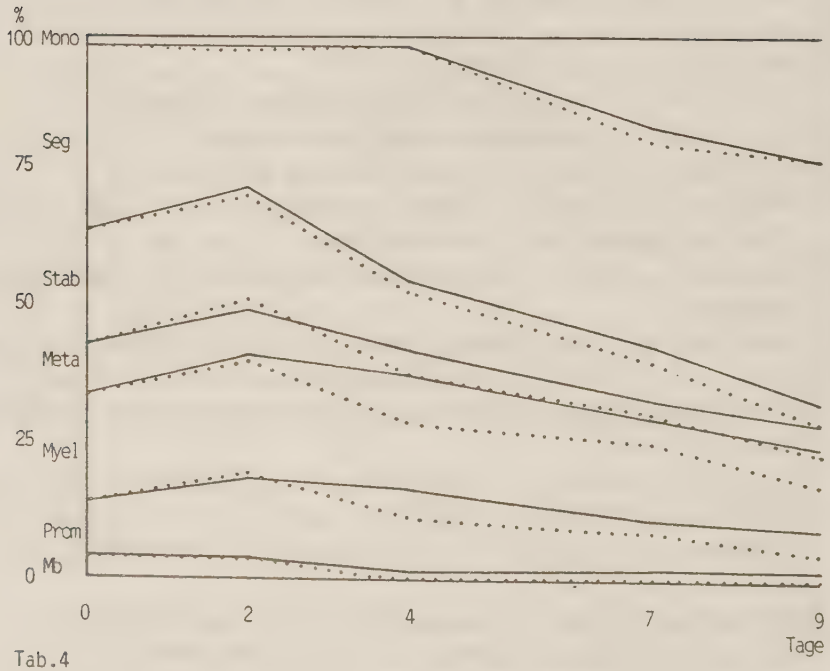
Insgesamt ergibt sich in der Granulopoese eine leichte vermehrte Ausreifung über alle Kulturtage. Die absolute Zellzahl fällt am 7. und 9. Tag sowohl unter Roacutan^{R}, als auch in der Kontrolle ab.

Knochenmarkkultur Nr.2

Granulopoese - relative Anteile Abb.6

Kontrolle ————————

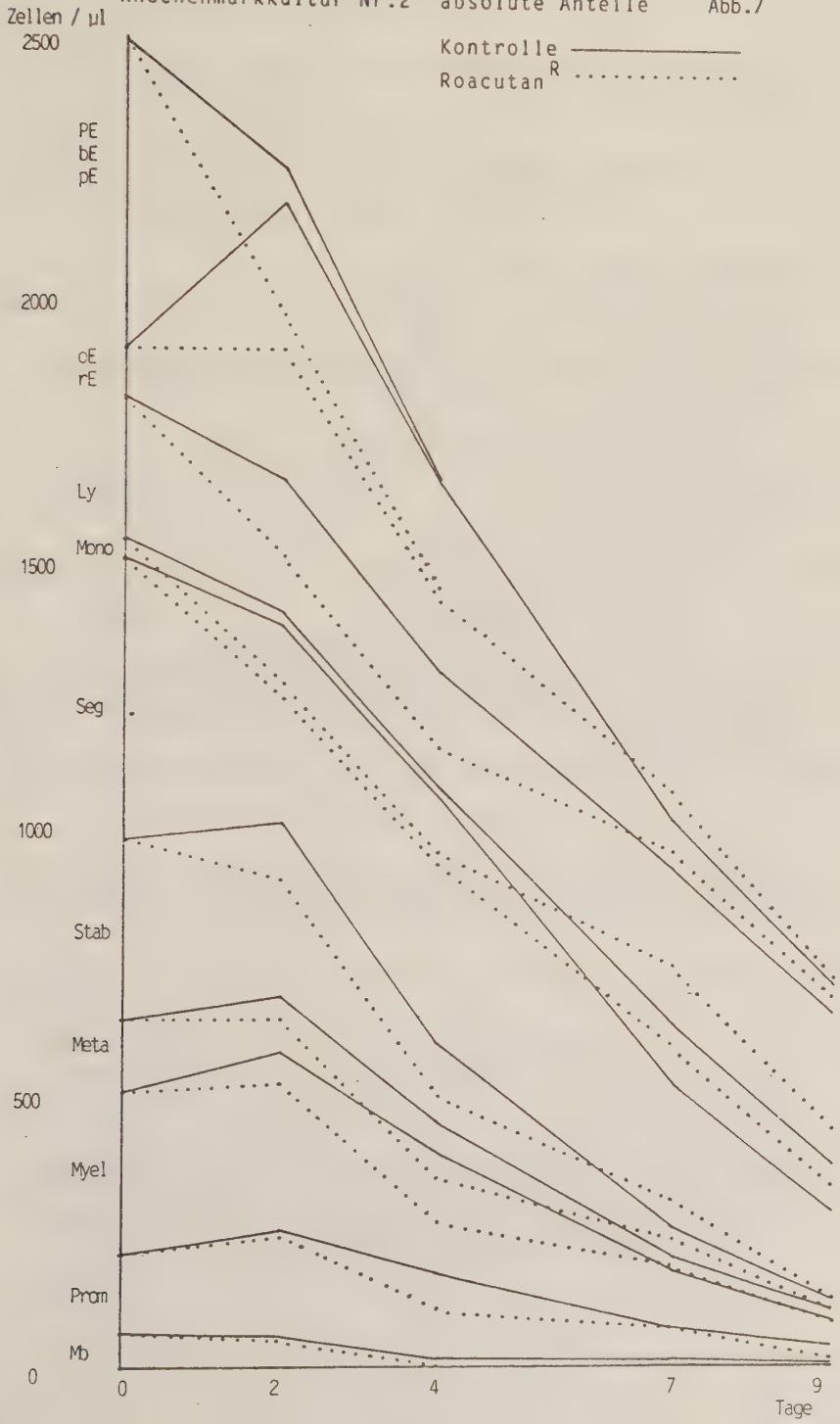
Roacutan^{R} ·····



Tab.4

Kulturtage	Org	2	4	7	9
Mitoseindex Kontrolle ‰	13,1	8,2	6,4		
Mitoseindex Roacutan ‰		4,6	2,0		
Reifungsindex Kontrolle	0,71	0,95	0,72	0,46	0,38
Reifungsindex Roacutan		1,03	0,58	0,46	0,30
G / E Kontrolle	2,36	2,40	3,00	7,07	6,78
G / E Roacutan		2,81	3,20	6,83	11,2

Knochenmarkkultur Nr.2 absolute Anteile Abb.7



Beschreibung der Knochenmarkkultur Nr. 2 mit Tigason^{R} im Vergleich zur Kontrolle:

Absolute Zellzahl: Abnahme vom 2.- 7. Tag, am 9. Tag deutliche Zunahme (womöglich Meßfehler in der Zählkammer) (Abb.9, Tab.6)

Granulopoese (Abb.8, Abb.9, Tab.6):
Myeloblasten: geringe Zunahme am 2. Tag, dann Abnahme bis zum Verschwinden am 7. und 9. Tag
Promyelozyten: Zunahme am 2. Tag, Abnahme am 4. Tag, 7. Tag gleichbleibend
Myelozyten: Zunahme am 2. Tag, Abnahme am 4. und 7. Tag
Metamyelozyten: Abnahme am 2. Tag, Zunahme vom 4.- 7. Tag
Stabkernige: Abnahme am 2. Tag, Zunahme am 7. Tag, wenig Veränderung an den anderen Tagen
Segmentkernige: absolute Abnahme am 2. und 4. Tag, absolute und relative Zunahme am 7. und 9. Tag
Monozyten: deutliche Zunahme am 7. und 9. Tag
Mitoseindex der Granulopoese: etwas kleiner am 2. Tag, deutlich kleiner am 4. Tag, keine Mitosen in beiden Kulturen am 7. und 9. Tag (Tab.5)
Reifungsindex: gering kleiner am 2. Tag, dann etwas kleiner vom 4.- 7.Tag (Tab.5)

Lymphopoese: Zunahme der Lymphozyten am 2. und 4. Tag, Abnahme am 7. und 9. Tag (Abb.9, Tab.6)

Erythropoese: Abnahme am 2. und 4. Tag, Zunahme am 7. und 9. Tag (Abb.9, Tab.6)

G / E Index: bis zum 7. Tag etwa gleich, am 9. Tag deutlich größer (Tab.5)

Insgesamt ergibt sich unter Tigason^{R} eine Zunahme der unreifen Zellen der Granulopoese am 2. Kulturtag, ab dem 4. Tag zeigt sich eine leichte Ausreifungsbeschleunigung.

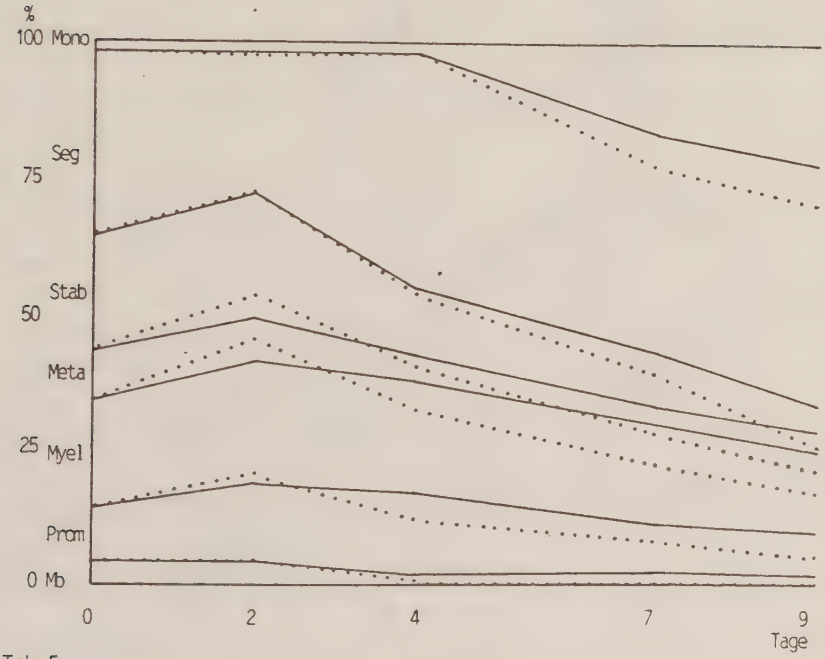
Knochenmarkkultur Nr. 2

Granulopoese - relative Anteile

Abb.8

Kontrolle ————————

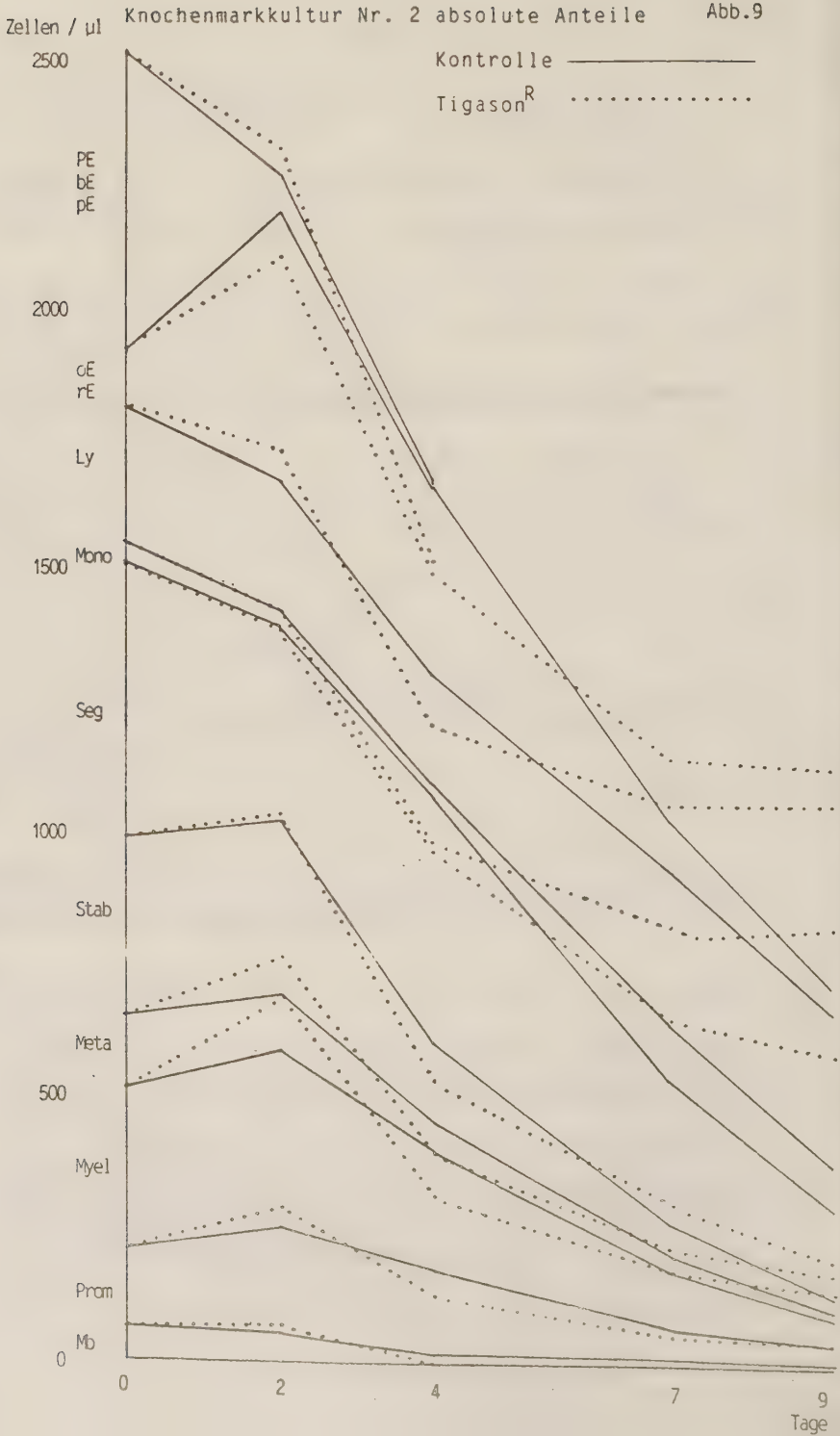
Tigason^{R} ·····



Tab.5

Kulturtage	Org	2	4	7	9
Mitoseindex Kontrolle ‰	13.1	8.2	6,4		
Mitoseindex Tigason ‰		6,0	3,0		
Reifungsindex Kontrolle	0,71	0,95	0,72	0,46	0,38
Reifungsindex Tigason		1,15	0,66	0,35	0,26
G / E Kontrolle	2,36	2,40	3,00	7,07	6,78
G / E Tigason		2,96	3,15	7,84	12,1

Knochenmarkkultur Nr. 2 absolute Anteile Abb.9



Knochenmarkkultur Nr.2
absolute Anteile Zellen / µl

Tab.6

	Kontrolle					Roacutan^{R}				Tigason^{R}			
Tage	0	2	4	7	9	2	4	7	9	2	4	7	9
PE	23	12				11				22			
bE	82	19	3			11				38	2		
pE	479	32	8			41	24			50	15		
oE	36	212	53	10	4	157	73	12	2	188	63	11	3
rE	51	316	297	81	51	237	202	98	38	183	231	84	65
Summe	671	591	361	81	55	457	299	110	40	481	311	105	68
Mb	65	58	14	13	8	55	4	4	3	71	7		
Prom	147	196	157	57	28	186	106	69	17	222	121	62	42
Myel	301	333	231	109	78	286	161	118	62	378	187	107	102
Meta	132	105	53	25	13	121	82	45	21	90	76	43	30
Stab	346	335	147	54	20	262	152	75	23	277	141	88	22
Seg	532	362	463	276	165	339	433	292	214	345	430	345	387
Mono	31	28	19	110	86	33	21	148	104	40	19	178	243
Summe	1554	1417	1084	644	389	1282	959	751	446	1423	981	823	826
Ly	271	246	219	291	287	241	203	215	242	304	240	231	227
Summe absolut	2550	2500	1850	1200	800	2150	1600	1200	800	2000	1350	1000	1200

relative Anteile %

	Kontrolle					Roacutan^{R}				Tigason^{R}			
Tage	0	2	4	7	9	2	4	7	9	2	4	7	9
Mb	4,2	4,1	1,3	1,9	2,2	4,3	0,4	0,5	0,7	4,9	0,7		
Prom	9,4	13,8	14,4	8,6	7,4	14,4	10,9	9,2	3,7	15,4	12,3	7,8	5,0
Myel	18,2	23,3	21,2	17,6	14,0	22,2	16,6	15,6	13,8	26,2	18,9	13,6	12,3
Meta	8,4	7,3	4,9	3,8	3,5	9,4	8,5	5,9	4,7	6,3	7,7	5,5	3,6
Stab	22,1	23,4	13,5	8,2	5,3	20,3	15,7	9,9	5,2	19,2	14,3	11,1	2,6
Seg	33,9	24,8	42,4	31,7	43,6	26,3	44,8	38,6	47,8	23,9	43,7	43,6	46,6
Mono	2,8	3,3	2,3	16,7	22,7	2,5	2,1	19,5	23,7	2,8	2,0	22,4	29,2

Beschreibung der Knochenmarkkultur Nr. 3 mit Roacutan^{R} im Vergleich zur Kontrolle:

Absolute Zellzahl: Abnahme über alle Kulturtage (Abb.11, Tab.9)

Granulopoese (Abb.10, Abb.11, Tab.9):
Myeloblasten: keine wesentliche Veränderung
Promyelozyten: Abnahme am 2. und 7. Tag, geringeZunahme am 4. Tag
Myelozyten: Zunahme am 2. und 4. Tag, Abnahme am 7. Tag
Metamyelozyten: Abnahme am 2. und 4. Tag, etwa gleichbleibend am 7. Tag
Stabkernige: relative Abnahme am 2. Tag, relative Zunahme am 4. Tag, absolut wenig Veränderung
Segmentkernige: Zunahme am 2. und 7. Tag, Abnahme am 4. Tag
Monozyten: Zunahme am 2. Tag, Abnahme am 4. und 7. Tag
Mitoseindex der Granulopoese: kaum Veränderung am 2. Tag, leichte Abnahme am 4. Tag, am 7. Tag keine Mitosen in beiden Kulturen (Tab.7)
Reifungsindex: am 2. und 7. Tag etwas kleiner, am 4. Tag deutlich größer (Tab.7)

Lymphopoese: Abnahme der Lymphozyten über alle Kulturtage (Abb.11, Tab.9)

Erythropoese: Abnahme der unreifen Zellen am 2. Tag, in den späten Kulturtagen in beiden Kulturen fast nur noch reife Zellen und keine Mitosen (Abb.11, Tab.9)

G / E Index: am 2. Tag größer, am 4. und 7. Tag kleiner (Tab.7)

Insgesamt zeigt sich unter Roacutan^{R} eine leichte Ausreifungsbeschleunigung in der Granulopoese am 2. und 7. Tag. Am 4. Tag ergibt sich eine deutliche Verringerung der Segmentkernigen.

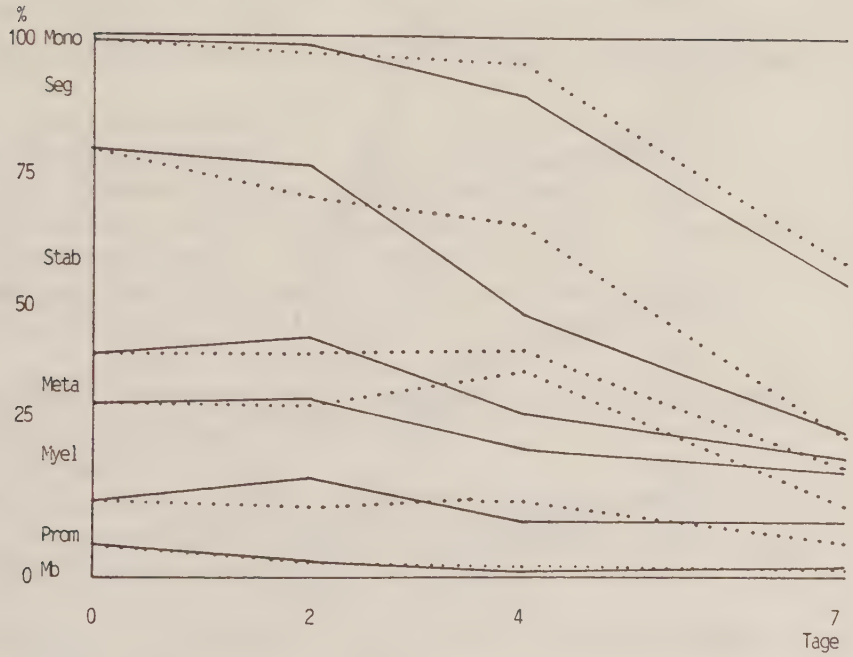
Knochenmarkkultur Nr.3

Granulopoese - relative Anteile

Abb.10

Kontrolle ——————

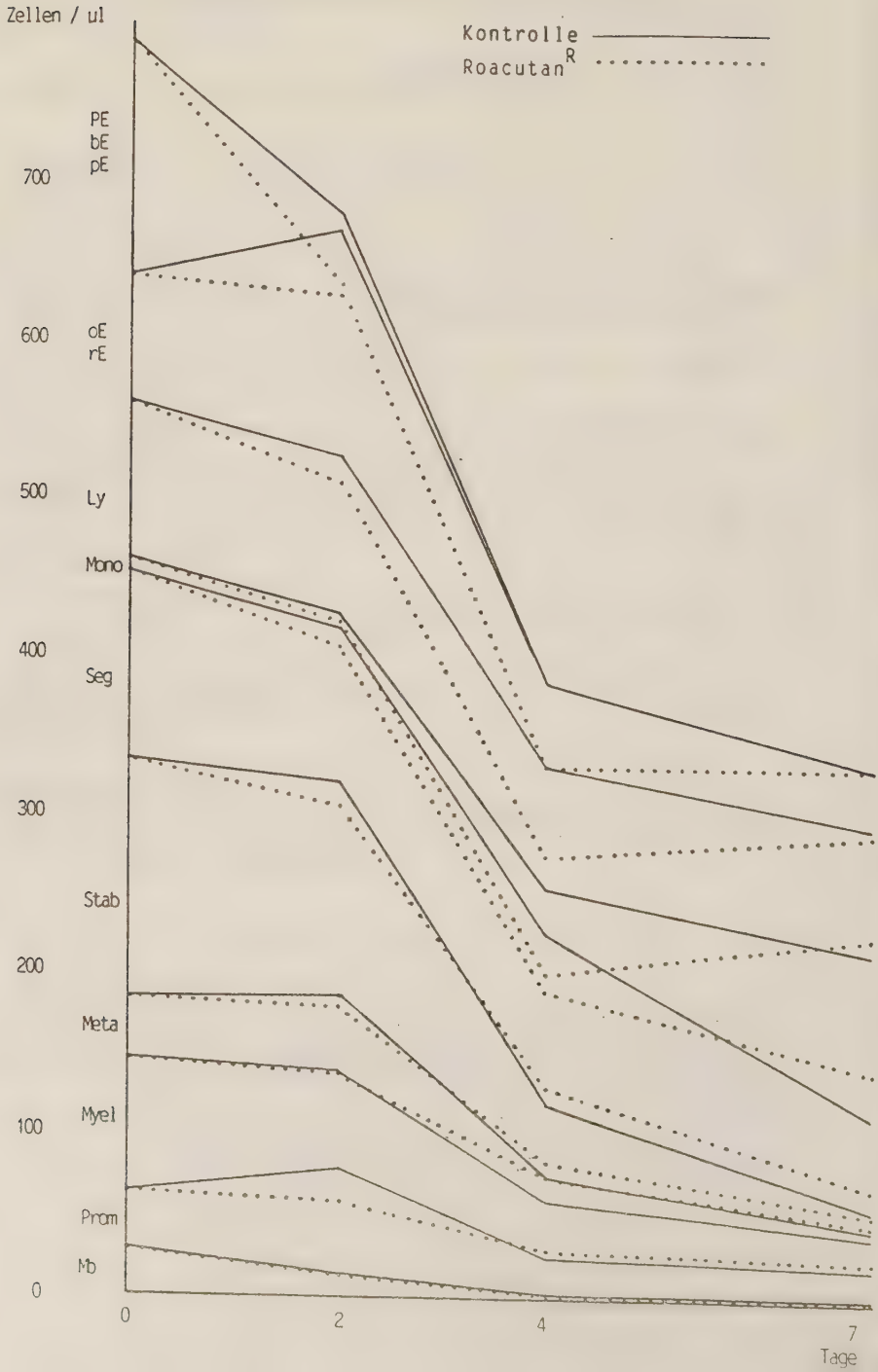
Roacutan^{R} ·····



Tab.7

Kulturtage	Org	2	4	7
Mitoseindex Kontrolle %	13,0	8,1	10,6	
Mitoseindex Roacutan %		8,4	8,1	
Reifungsindex Kontrolle	0,69	0,78	0,43	0,21
Reifungsindex Roacutan		0,70	0,72	0,19
G / E Kontrolle	1,97	2,76	4,88	5,73
G / E Roacutan		3,44	3,5	3,8

Knochenmarkkultur Nr.3 absolute Anteile Abb.11



Beschreibung der Knochenmarkkultur Nr. 3 mit Tigason^{R} im Vergleich zur Kontrolle:

Absolute Zellzahl: Abnahme über alle Kulturtage (Abb.13, Tab.9)

Granulopoese (Abb.12, Abb.13, Tab.9):
Myeloblasten: wenig Veränderung
Promyelozyten: Abnahme am 2. Tag, Zunahme am 4. und 7. Tag
Myelozyten: absolut wenig Veränderung, relative Zunahme am 2. und 4. Tag
Metamyelozyten: Abnahme am 2. und 4. Tag, wenig Veränderung am 7. Tag
Stabkernige: Abnahme am 2. und 4. Tag, Zunahme am 7. Tag
Segmentkernige: Zunahme am 2. und 7. Tag, Abnahme am 4. Tag
Monozyten: Zunahme am 2. Tag, Abnahme am 4. und 7. Tag
Mitoseindex der Granulopoese: Abnahme am 2. und 4. Tag, am 7. Tag keine Mitosen in beiden Kulturen (Tab.8)
Reifungsindex: am 2. Tag etwas kleiner, am 4. und 7. Tag größer (Tab.8)

Lymphopoese: Abnahme der Lymphozyten über alle Kulturtage (Abb.13, Tab.9)

Erythropoese: am 2. Tag deutliche Abnahme der unreifen Zellen, wenig Veränderung am 4. und 7. Tag, kaum Mitosen in beiden Kulturen (Abb.13, Tab.9)

G / E Index: am 2. Tag größer, am 4. und 7. Tag kleiner (Tab.8)

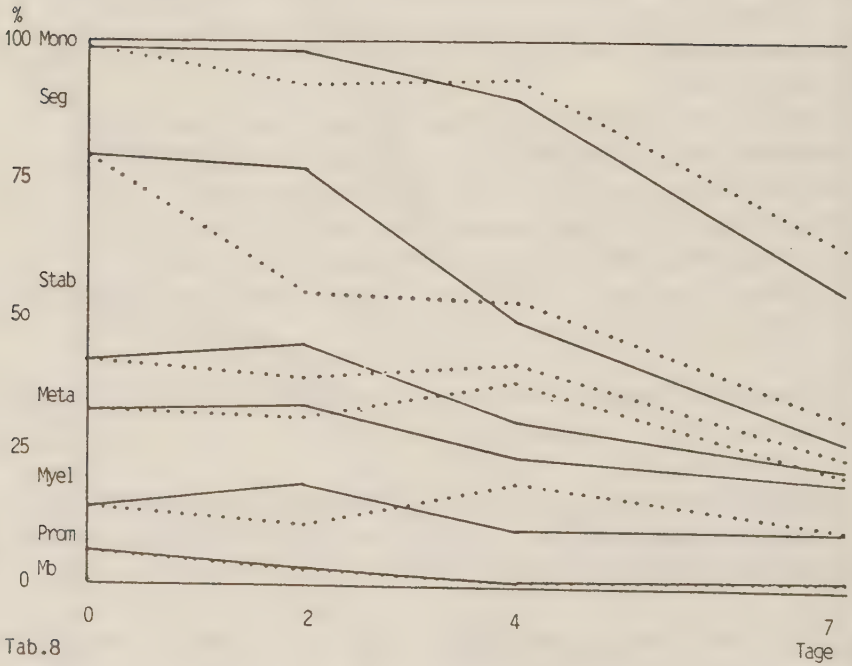
Insgesamt ergibt sich unter Tigason^{R} am 2. Tag eine leichte Ausreifung mit deutlicher Abnahme der Promyelozyten und Stabkernigen zugunsten der Segmentkernigen. Am 4. und 7. Tag nehmen die Promyelozyten dann wieder zu, die Anzahl der Monozyten wird geringer.

Knochenmarkkultur Nr.3

Granulopoese - relative Anteile Abb.12

Kontrolle ————————

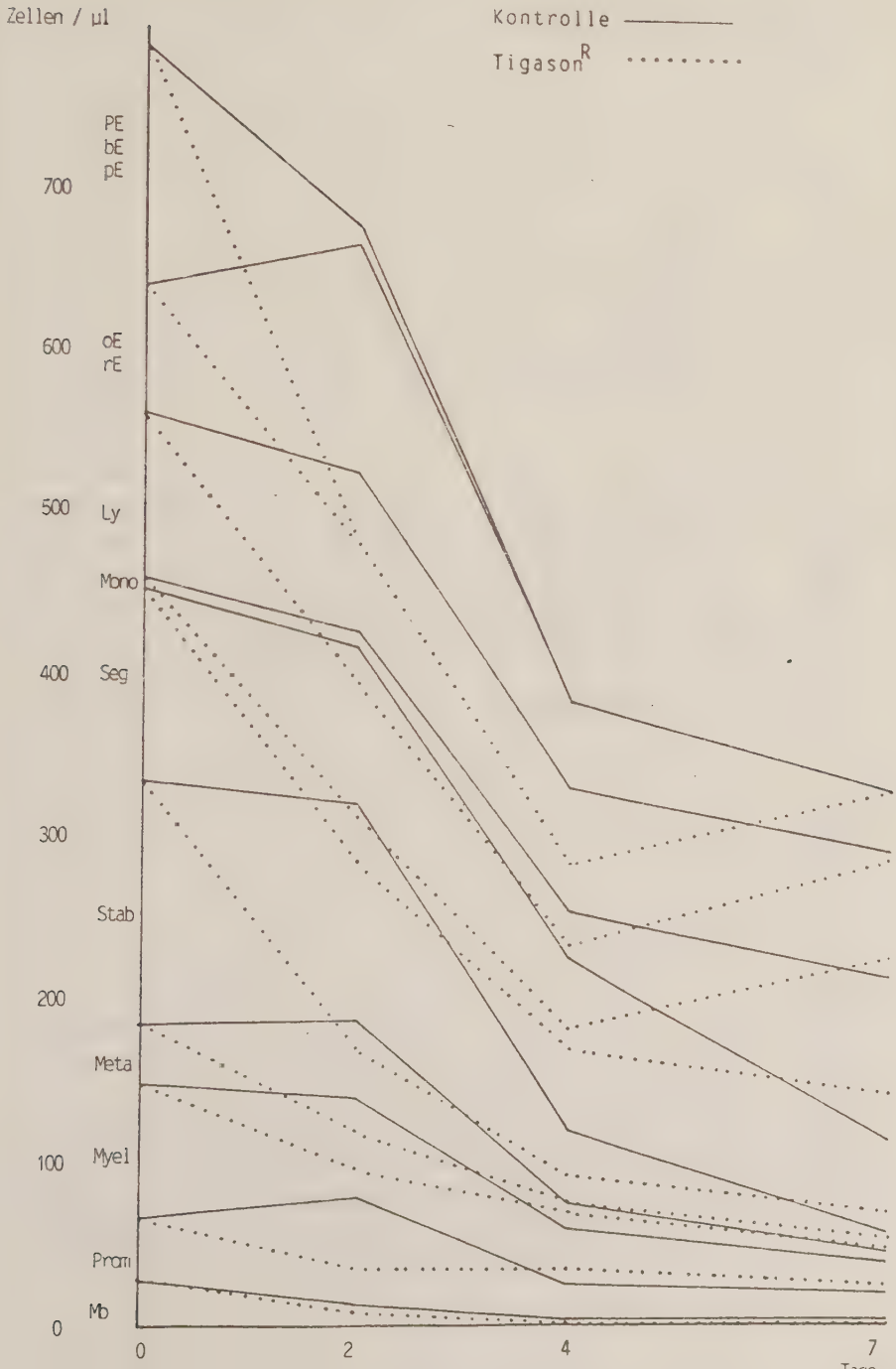
Tigason^{R} ·····



Tab.8

Kulturtage	Org	2	4	7
Mitoseindex Kontrolle ‰	13,0	8,1	10,6	
Mitoseindex Tigason ‰		5,9	5,8	
Reifungsindex Kontrolle	0,69	0,78	0,43	0,21
Reifungsindex Tigason‰		0,63	0,72	0,31
G / E Kontrolle	1,97	2,76	4,88	5,73
G / E Tigason		3,60	3,64	5,36

Knochenmarkkultur Nr.3 absolute Anteile Abb.13



Knochenmarkkultur Nr.3
absolute Anteile Zellen / ul

Tab.9

	Kontrolle				Roacutan^{R}			Tigason^{R}		
Tage	0	2	4	7	2	4	7	2	4	7
PE	19									
bE	21				3					
pE	108	7			4	2		3		
oE	68	18	3	1	17	2	2	21	5	2
rE	12	129	49	36	102	54	43	63	45	40
Summe	228	154	52	37	126	56	45	87	50	42
Mb	28	14	3	4	13	4	2	10	3	2
Prom	35	63	22	17	45	25	9	25	32	23
Myel	84	63	35	19	80	48	11	62	34	22
Meta	37	46	16	5	41	7	5	22	7	6
Stab	175	133	45	11	126	45	9	50	18	18
Seg	85	98	105	59	114	61	65	117	75	71
Mono	5	7	28	97	15	10	71	27	13	83
Summe	449	424	254	257	434	200	172	312	182	224
Ly	103	101	77	80	75	74	69	82	51	63
Summe absolut	800	700	400	400	650	350	300	500	300	350

relative Anteile %

	Kontrolle				Roacutan^{R}			Tigason^{R}		
Tage	0	2	4	7	2	4	7	2	4	7
Mb	6,2	3,3	1,2	1,9	3,0	2,0	1,2	3,2	1,6	0,9
Prom	7,8	14,9	8,7	8,0	10,4	12,5	5,2	8,0	17,6	10,2
Myel	18,7	14,9	13,8	9,0	18,4	24,0	6,4	19,8	14,8	8,0
Meta	8,2	10,9	6,3	2,4	9,4	3,5	2,9	7,0	3,8	2,7
Stab	39,0	31,4	17,7	5,2	29,0	22,5	5,2	16,0	9,9	8,0
Seg	18,9	23,1	41,4	27,8	26,2	30,5	37,8	37,3	41,2	31,6
Mono	1,1	1,7	11,0	45,7	3,5	5,0	41,3	8,6	7,1	36,9

Beschreibung der Knochenmarkkultur Nr. 4. mit Roacutan^{R} im Vergleich zur Kontrolle:

Absolute Zellzahl: Zunahme am 3. Tag, Abnahme an den anderen Kulturtagen (Abb.15, Tab.12)

Granulopoese (Abb.14, Abb.15, Tab.12):
Myeloblasten: deutliche Abnahme über alle Kulturtage
Promyelozyten: Abnahme vom 1.- 7. Tag, Zunahme am 10. Tag
Myelozyten: absolute Abnahme am 1., 3., 5., und 10. Tag, relative Zunahme am 5. und 7. Tag
Metamyelozyten: Zunahme am 1. und 3. Tag, Abnahme am 7. und 10. Tag
Stabkernige: Zunahme vom 1.- 7. Tag, am 10. Tag etwa gleichbleibend
Segmentkernige: absolute Zunahme am 3.Tag, relative Zunahme auch am 5. und 7. Tag, Abnahme am 1. und 10. Tag
Monozyten: Abnahme vom 1.- 7. Tag, Zunahme am 10. Tag
Mitoseindex der Granulopoese: deutlich größer am 1. und 3. Tag, an den späten Kulturtagen keine Mitosen mehr in beiden Kulturen (Tab.10)
Reifungsindex: an allen Kulturtagen kleiner (Tab.10)

Lymphopoese: Abnahme der Lymphozyten am 1., 5., 7. und 10. Tag, Zunahme am 3.Tag (Abb.15, Tab.12)

Erythropoese: deutliche Zunahme der reifen Zellen am 1. und auch noch am 3. Tag, ab 7. Tag kaum noch Zellen der Erythropoese, wenig Mitosen in beiden Kulturen (Abb.15, Tab.12)

G / E Index: vom 1.- 5. Tag kleiner, am 7. und am 10. Tag größer (Tab.10)

Die relativ großen Schwankungen der absoluten Zellzahl beruhen warscheinlich auf Meßfehlern in der Zählkammer. Insgesamt ergibt sich unter Roacutan^{R} eine Abnahme der unreifen Zellen der Granulopoese zugunsten einer Zunahme der Stabkernigen über fast alle Tage und eine starke Zunahme der Segmentkernigen schon am 3. Kulturtag.

Knochenmarkkultur Nr. 4

Granulopoese - relative Anteile

Abb.14

Kontrolle ————————

Roacutan^{R} ·····

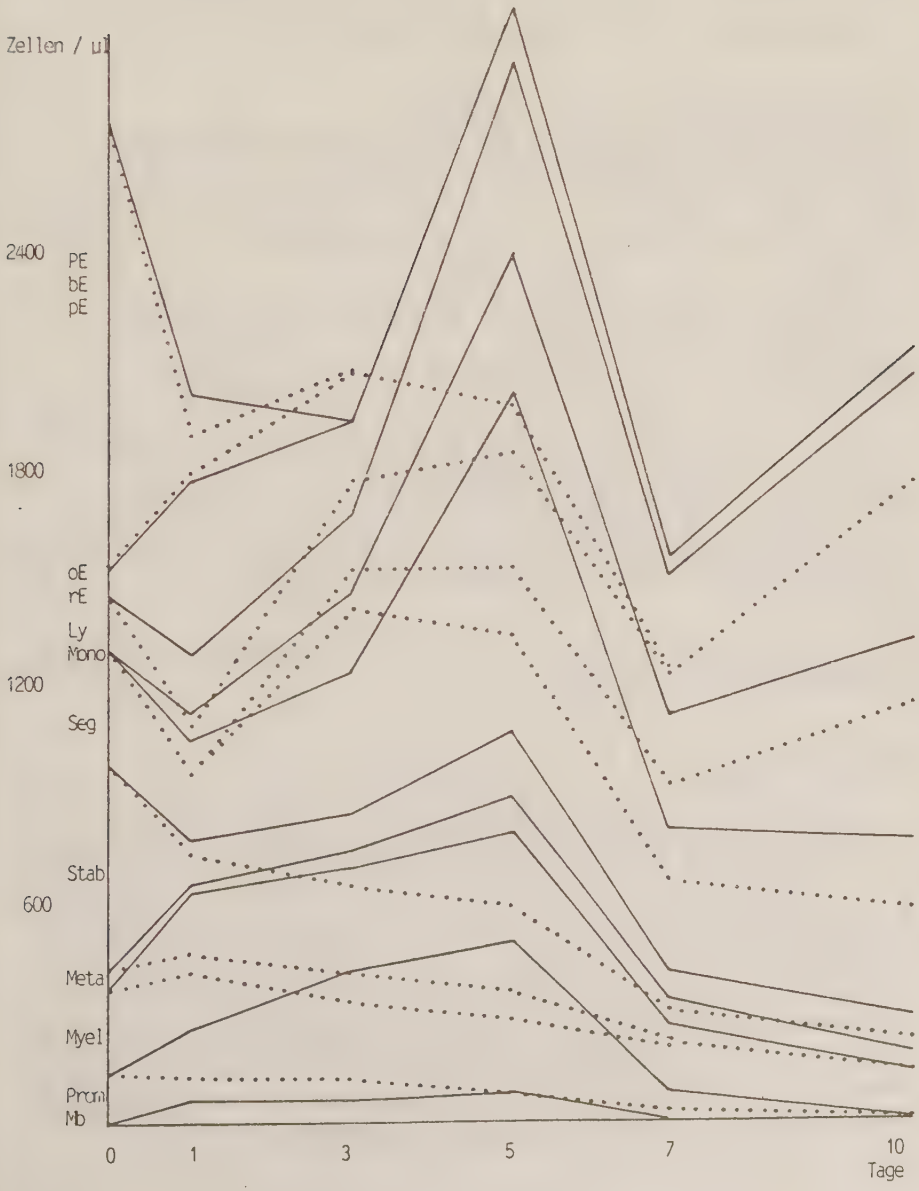
Tab.10

Kulturtage	Org	1	3	5	7	10
Mitoseindex Kontrolle ‰	6,5	5,8	9,4	3,5		
Mitoseindex Roacutan ‰		14,5	15,5			
Reifungsindex Kontrolle	0,47	1,38	1,07	0,59	0,41	0,17
Reifungsindex Roacutan		0,83	0,37	0,30	0,32	0,14
G / E Kontrolle	1,08	1,49	5,36	16,1	30	18,9
G / E Roacutan		1,23	3,63	11,8	50,8	72,5

Knochenmarkkultur Nr.4 absolute Anteile Abb.15

Kontrolle ————————

Roacutan^{R} ·····



Beschreibung der Knochenmarkkultur Nr. 4 mit Tigason^{R} im Vergleich zur Kontrolle:

Absolute Zellzahl: Zunahme am 1., 3., 7. und 10. Tag, Abnahme am 5. Tag (die starken Schwankungen beruhen warscheinlich auf auf Meßfehlern in der Zählkammer) (Abb.17, Tab.12)

Granulopoese(Abb.16, Abb.17, Tab.12):
Myeloblasten: es waren keine Myeloblasten mehr aufzufinden
Promyelozyten: Abnahme über alle Kulturtage
Myelozyten: Zunahme am 1., 5., 7. und 10. Tag, Abnahme am 3. Tag
Metamyelozyten: Zunahme am 1. und 3. Tag, Abnahme am 5., 7. und 10. Tag
Stabkernige: Absolute Zunahme am 3. und 5. Tag, relative Abnahme am 7. und 10. Tag
Segmentkernige: deutliche Zunahme am 3. und 5. Tag , auch Zunahme an den anderen Tagen
Monozyten: Abnahme in den ersten Tagen, absolute Zunahme bei relativer Abnahme in den späten Tagen
Mitoseindex der Granulopoese: größer am 1., 3., und 5. Tag, in den späten Kulturtagen keine Mitosen in beiden Kulturen (Tab.11)
Reifungsindex: an allen Kulturtagen kleiner (Tab.11)

Lymphopoese: Zunahme am 1., 3., 7. und 10. Tag, Abnahme am 5.Tag (Abb.17, Tab.12)

Erythropoese: Zunahme vom 1.- 5. Tag, am 1. Tag besonders der reifen Zellen, am 3. und 5. Tag besonders der oxyphilen Erythroblasten, leichte Verringerung der reifen Zellen am 7. und 10. Tag, kaum Mitosen in beiden Kulturen (Abb.17, Tab.12)

G / E Index: größer am 1. und 7. Tag, kleiner am 3., 5. und 10. Tag

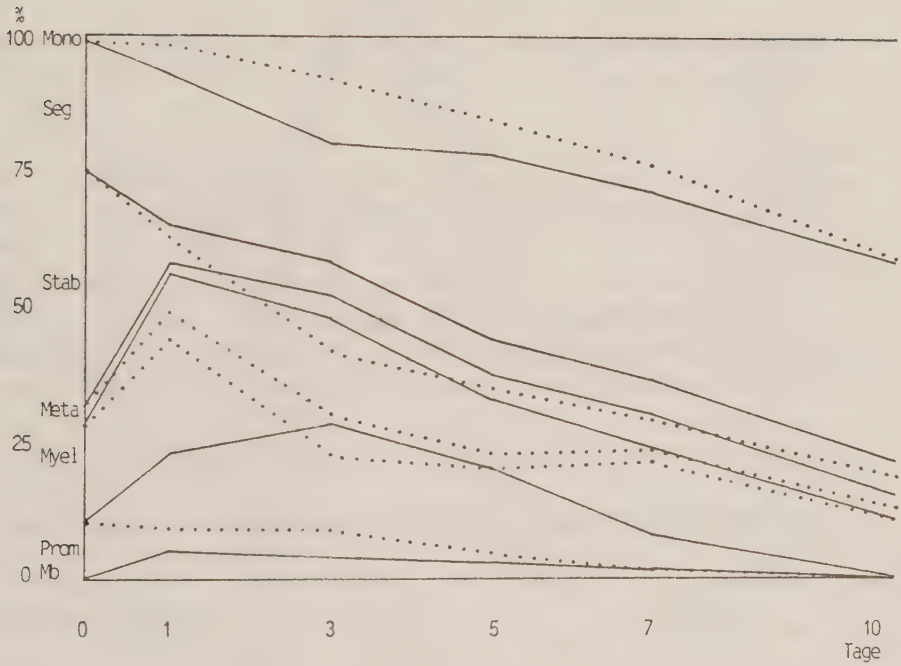
Es findet sich unter Tigason^{R} über alle Kulturtage eine Verringerung der Promyelozyten und ein Verschwinden der Myeloblasten zugunsten der Stab- und Segmentkernigen. Auch der Reifungsindex spricht deutlich für eine vermehrte Ausreifung.

Knochenmarkkultur Nr. 4

Granulopoese - relative Anteile Abb.16

Kontrolle ————————

Tigason^{R} ·····



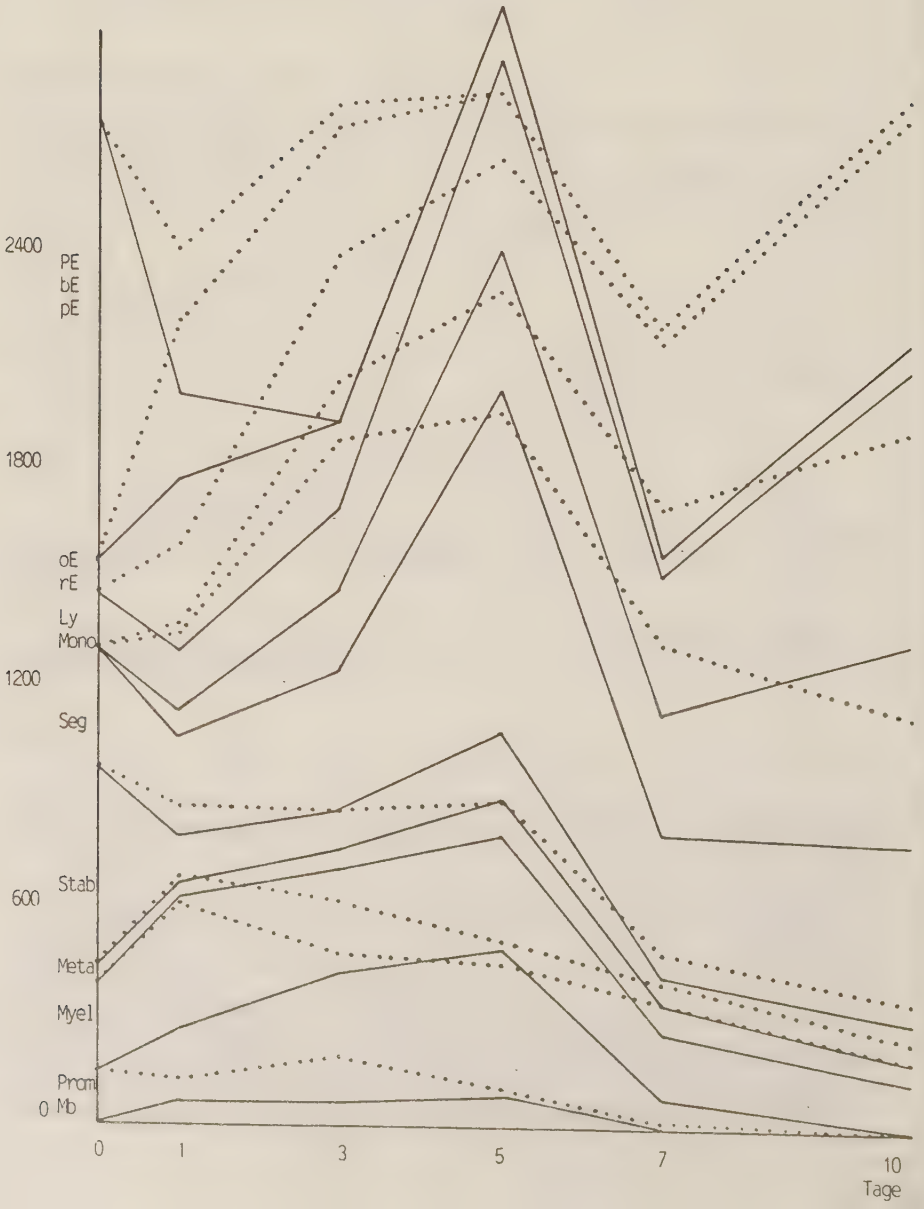
Tab.11

Kulturtage	Org	1	3	5	7	10
Mitoseindex Kontrolle ‰	6,5	5,8	9,4	3,5		
Mitoseindex Tigason ‰		14,9	11,9	6,0		
Reifungsindex Kontrolle	0,47	1,38	1,07	0,59	0,41	0,17
Reifungsindex Tigason		0,96	0,43	0,3	0,3	0,14
G / E Kontrolle	1,08	1,49	5,36	16,1	30	72,5
G / E Tigason		1,67	4,97	11,9	41,2	39,6

Knochenmarkkultur Nr. 4 absolute Anteile Abb.17

Kontrolle ——————

Tigason^{R} ·····



Knochenmarkkultur Nr.4

absolute Anteile Zellen / µl Tab.12

	Kontrolle						Roacutan®					Tigason®				
Tage	0	1	3	5	7	10	1	3	5	7	10	1	3	5	7	10
PE	36	4					3									
bE	135	25					5	5				36				
pE	929	210	10				83	9				169	61	5		
oE	162	262	63	1			170	83	38			246	133	69		
rE	41	212	196	147	48	70	527	219	92	18	16	369	215	108	41	48
Summe	1198	713	269	148	48	70	788	316	130	18	16	820	409	182	41	48
Mb	7	57	61	77	6			3	3							
Prom	128	195	350	414	74		128	119	71	30	20	124	187	104	18	
Myel	236	375	285	301	173	136	280	210	208	174	120	476	280	336	336	204
Meta	45	22	50	101	70	53	52	75	75	18		70	142	60	32	36
Stab	559	126	95	173	74	92	279	246	238	80	88	190	248	252	90	108
Seg	314	269	383	939	387	484	220	762	753	359	360	479	1019	1067	810	774
Mono	7	75	216	390	320	567	7	104	180	265	572	26	157	333	405	780
Summe	1296	1119	1442	2397	1104	1332	966	1520	1528	926	1160	1365	2033	2152	1691	1902
Ly	154	168	222	546	400	739	136	246	321	304	612	220	355	368	455	864
Summe abs.	2700	2000	2000	3200	1600	2200	1900	2100	2000	1300	2000	2500	2900	3000	2300	3000

relative Anteile %

	Kontrolle						Roacutan®					Tigason®				
Tage	0	1	3	5	7	10	1	3	5	7	10	1	3	5	7	10
Mb	0,5	5,1	4,2	3,2	1,5			0,2	0,2							
Prom	9,9	17,4	24,3	17,3	6,7		13,2	7,8	4,6	3,1	1,7	9,1	9,2	4,8	1,2	
Myel	18,2	33,5	19,8	12,6	15,6	10,3	29,0	13,9	13,6	18,9	10,3	34,9	13,8	15,6	20,3	10,8
Meta	3,4	2,0	3,5	4,2	6,3	3,9	5,4	4,9	4,9	2,0		5,1	7,0	2,8	1,9	1,8
Stab	43,1	11,3	6,6	7,2	6,6	7,0	28,9	16,2	15,6	8,7	7,6	13,9	12,2	11,7	5,4	5,8
Seg	24,3	24,0	26,6	39,2	34,6	36,1	22,7	50,2	49,3	38,7	31,0	35,1	50,1	49,6	47,4	42,6
Mono	0,5	6,7	15,0	16,3	28,7	42,7	0,7	6,8	11,8	28,6	49,4	1,9	7,7	15,5	23,8	41,0

Zusammenfassung der Ergebnisse

Mittelwerte der Kulturen Nr. 1 - Nr. 4 mit Roacutan^{R} im Vergleich zur Kontrolle:

Absolute Zellzahl: Abnahme über alle Kulturtage (Abb.19, Tab. 15)

Granulopoese (Abb.18, Abb.19, Tab.15, Tab.16):

Myeloblasten: Abnahme über alle Kulturtage, hochsignifikant vom 3. bis 7. Tag

Promyelozyten: Abnahme bis zum 8. Tag, am 10. Tag Zunahme, hochsignifikante Abnahme vom 3. bis 7. Tag

Myelozyten: Abnahme bis zum 3.- 4. Tag, Zunahme vom 5.- 10. Tag

Metamyelozyten: in den ersten Tagen keine deutliche Veränderung, ab 8. Tag Zunahme

Stabkernige: am 1.- 2. Tag und am 3.- 4. Tag Zunahme, am 8. und 10. Tag Abnahme, hochsignifikante Zunahme am 3.- 4. Tag

Segmentkernige: Zunahme vom 1.- 7. Tag, hochsignifikante Zunahme vom 3.- 7. Tag

Monozyten: Abnahme an den frühen Kulturtagen, Zunahme am 10. Tag, hochsignifikante Abnahme vom 3.- 7. Tag

Mitoseindex der Granulopoese: wenig Änderung an den frühen und mittleren Tagen, am 8. und 10. Tag keine Mitosen in allen Kulturen (Tab.13, Tab.16)

Reifungsindex: hochsignifikant kleiner am 3.- 7. Tag, an den späten Tagen keine Veränderung (Tab.13, Tab.16)

Lymphopoese: Abnahme der Lymphozyten bis zum 7. Tag, hochsignifikante Abnahme am 5.- 7. Tag, am 10. Tag leichte Zunahme (Abb.19, Tab.16)

Erythropoese: Zunahme der reifen Erythroblasten am 1.- 2. Tag, über alle Kulturtage Abnahme der gesamten Zellen der roten Reihe, ab dem 5.- 7. Tag kaum noch Zellen (Abb.19, Tab.15)

G / E Index: an den frühen und mittleren Tagen wenig Veränderung, an den späten Tagen deutlich größer (Tab.13)

Insgesamt zeigt sich unter Roàcutan^{R} eine Verkleinerung des Reifungsindex mit Zunahme von Segmentkernigen und Stabkernigen auf Kosten der Myeloblasten und Promyelozyten ab dem3. Kulturtag. In der Mitosehäufigkeit zeigt sich wenig Veränderung bei unveränderter karyologischer Kurve.

Die Anzahl an Monozyten und Lymphozyten nimmt an den mittleren Kulturtagen ab.

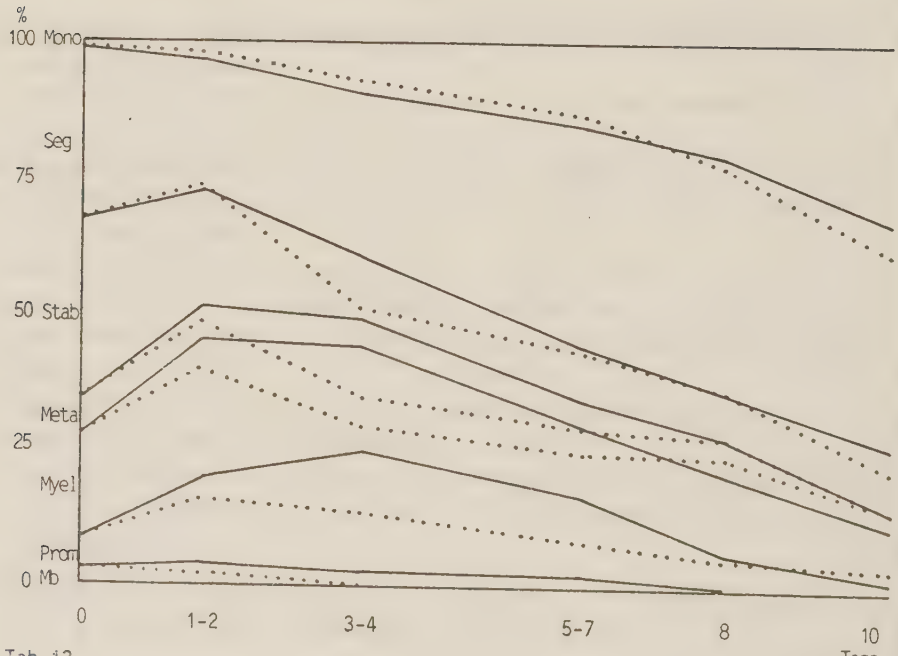
Die Erythropoese bleibt weitgehend unbeeinflußt.

Mittelwerte Kulturen Nr. 1 - 4

Granulopoese - relative Anteile Abb.18

Kontrolle ————————

Roacutan^{R} ·····



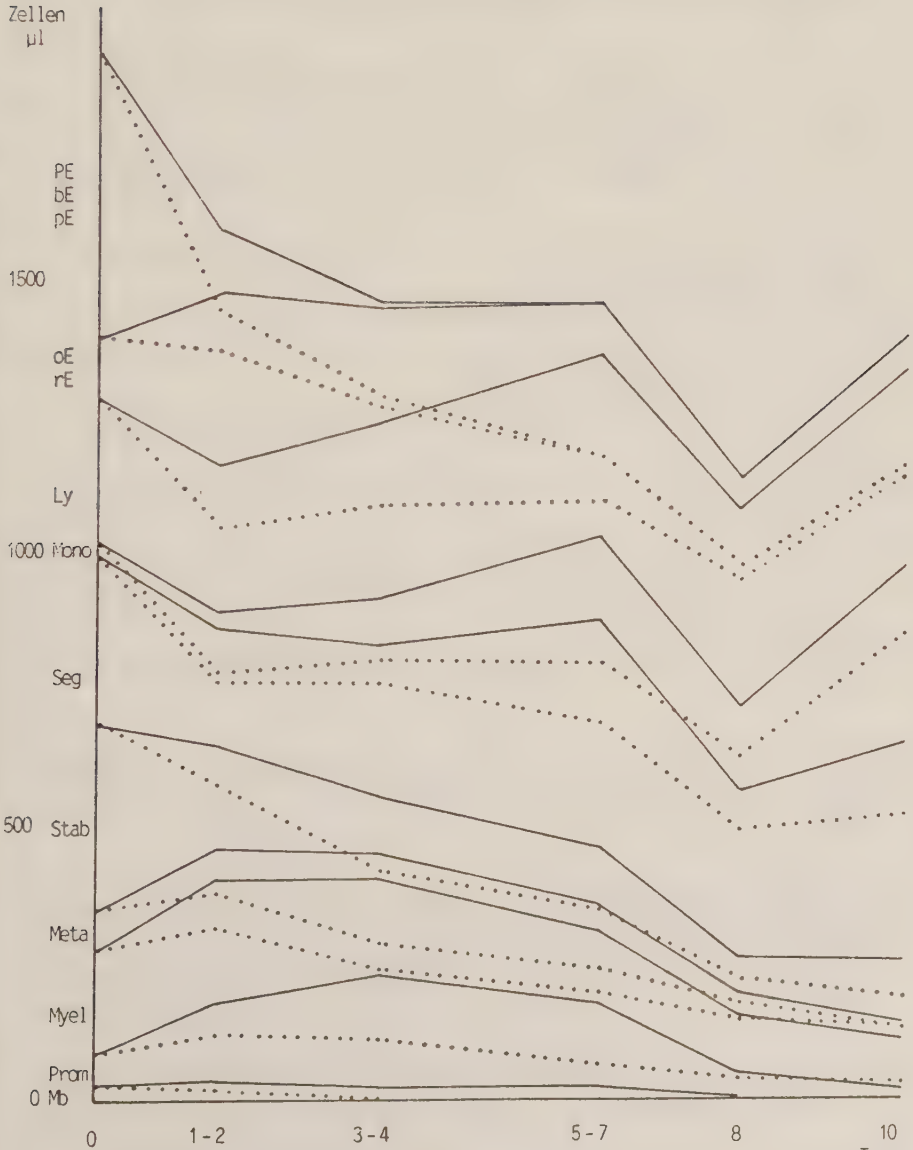
Tab.13

Kulturtage	Org	1-2	3-4	5-7	8	10
Mitoseindex Kontrolle ‰	12,6	8,33	9,88	3,62		
Mitoseindex Roacutan ‰		9,43	10,3	3,20		
Reifungsindex Kontrolle	0,52	1,05	0,96	0,52	0,38	0,17
Reifungsindex Roacutan		0,93	0,56	0,42	0,39	0,18
G / E Kontrolle	3,0	3,68	6,64	15,3	19,7	22,9
G / E Roacutan		3,60	6,30	13,6	32,0	92,0

Mittelwerte Kulturen Nr.1 - 4 absolute Anteile Abb.19

Kontrolle ——————

Roacutan^{R} ·····



Mittelwerte der Kulturen Nr. 1 - Nr. 4 mit Tigason^{R} im Vergleich zur Kontrolle:

Absolute Zellzahl: Abnahme nur bis zum 1.- 2. Tag, Zunahme am 8.- 10. Tag (Abb.21, Tab.15)

Granulopoese (Abb.20, Abb.21, Tab.15, Tab.16):

Myeloblasten: Abnahme über alle Kulturtage, hochsignifikant vom 3.- 7. Kulturtag

Promyelozyten: Abnahme bis zum 8. Tag, dann gleichbleibend, signifikante Abnahme am 3.- 4. Tag, hochsignifikante Abnahme am 5.- 7. Tag

Myelozyten: leichte Zunahme am 1.- 2. Tag und am 8. Tag, sonst etwa gleichbleibend

Metamyelozyten: wenig Veränderung über alle Kulturtage

Stabkernige: leichte Abnahme am 1. und letzten Kulturtag, leichte Zunahme an den mittleren Tagen

Segmentkernige: Zunahme über alle Kulturtage, hochsignifikant vom 3.- 7. Tag

Monozyten: Abnahme an den mittleren Tagen, hochsignifikant am 3.- 4. Kulturtag

Mitoseindex der Granulopoese: wenig Änderung an den frühen und mittleren Tagen, am 8. und 10. Tag keine Mitosen in beiden Kulturen (Tab.14, Tab.16)

Reifungsindex: am 3.- 7. Tag hochsignifikant kleiner (Tab.14, Tab.16)

Lymphopoese: Abnahme an den frühen und mittleren Tagen, Zunahme am 10. Tag, hochsignifikante Abnahme am 5.- 7. Tag (Abb.21, Tab.15, Tab.16)

Erythropoese: Abnahme am 1.- 2. und am 10. Tag, Zunahme an den mittleren Tagen, in beiden Kulturen starke Abnahme der Zellen der roten Reihe, ab dem 5.- 7. Tag kaum noch Zellen (Abb.21, Tab.15)

G / E Index: gleichbleibend bis zum 4. Tag, vergrößert ab dem 8. Kulturtag (Tab.14)

Insgesamt zeigt sich unter Tigason^{R} ein Verkleinerung des Reifungsindex mit Zunahme der Segmentkernigen auf Kosten der Myeloblasten und Promyelozyten ab dem 3. Tag. Die Mitosehäufigkeit bleibt gleich bei unveränderter karyologischer Kurve.

Die Zahl an Monozyten und Lymphozyten nimmt an den mittleren Kulturtagen ab.

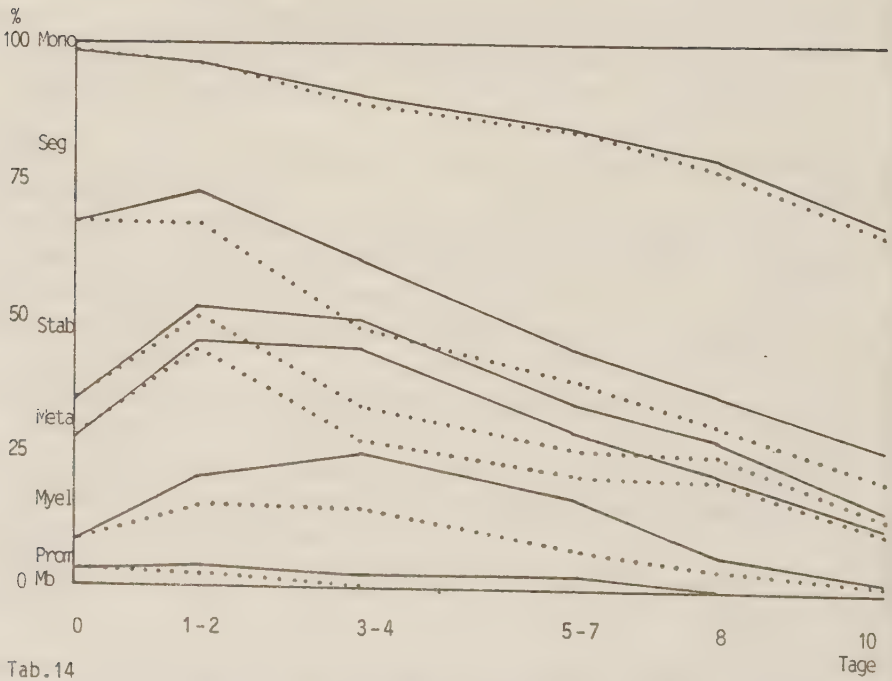
Die Erythropoese bleibt weitgehend unbeeinflußt.

Mittelwerte Kulturen Nr.1 - 4

Granulopoese - relative Anteile Abb.20

Kontrolle ————————

Tigason^{R} ·····



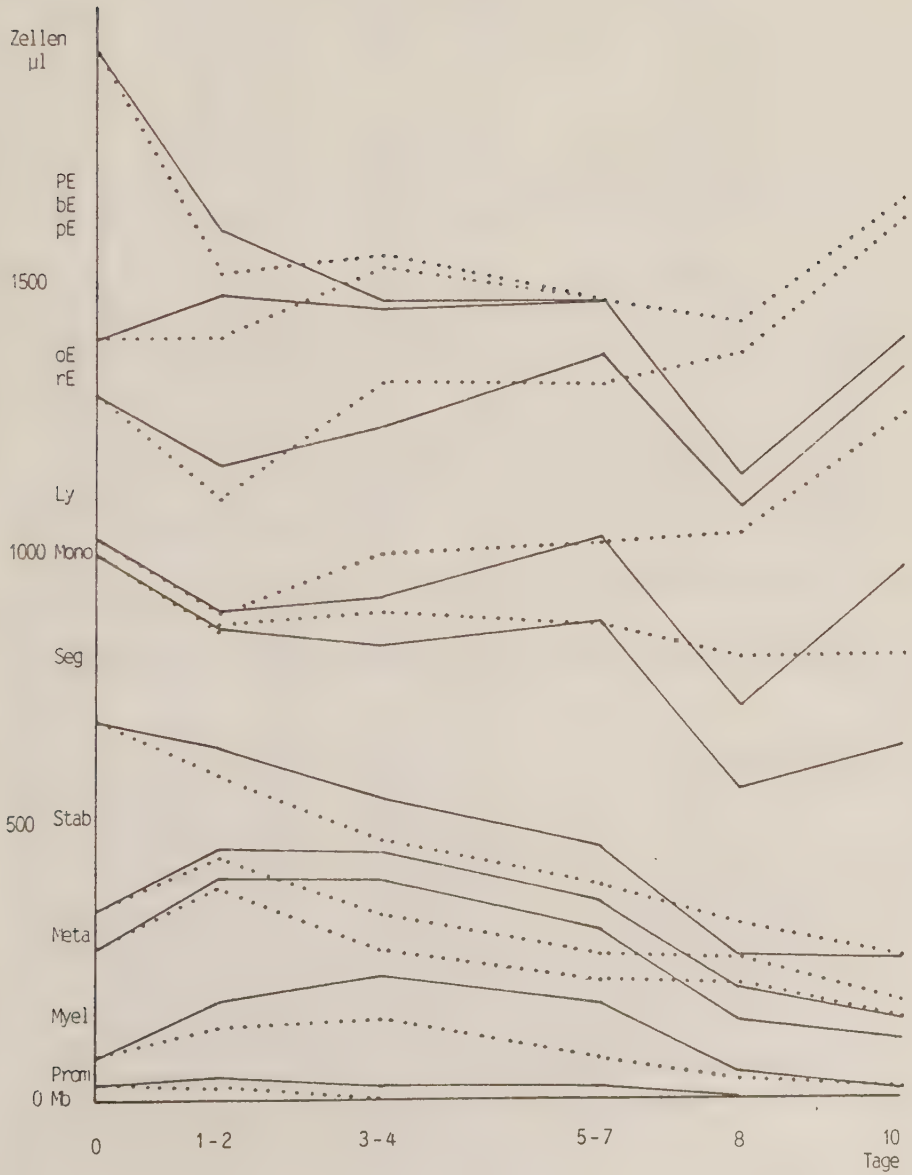
Tab.14

Kulturtage	Org	1-2	3-4	5-7	8	10
Mitoseindex Kontrolle ‰	12,6	8,33	9,88	3,62		
Mitoseindex Tigason ‰		9,86	11,3	3,85		
Reifungsindex Kontrolle	0,52	1,05	0,96	0,52	0,38	0,17
Reifungsindex Tigason		0,98	0,51	0,34	0,33	0,16
G / E Kontrolle	3,0	3,68	6,64	15,3	19,7	22,9
G / E Tigason		3,64	6,47	13,6	24,3	38,9

Mittelwerte Kulturen Nr. 1-4 absolute Anteile Abb.21

Kontrolle ——————

Tigason® .....



Mittelwerte Kulturen Nr. 1 - 4

absolute Anteile Zellen / ul

Tab.15

	Kontrolle						Roacutan^{R}					Tigason^{R}				
Tage	0	1-2	3-4	5-7	8	10	1-2	3-4	5-7	8	10	1-2	3-4	5-7	8	10
PE	23	6	1				5	1				8	1			
bE	68	13	2				7	2				22	2			
pE	442	98	10	3	1		62	15	4			88	26	4	1	1
oE	70	137	48	10	5	2	103	55	20	6	4	133	66	25	11	1
rE	36	178	160	84	52	60	225	133	64	24	18	164	145	75	48	41
Summe	638	433	220	96	58	62	402	205	88	30	22	416	240	104	60	43
Mb	31	35	24	26	5		18	4	4	1		21	6	2		
Prom	56	138	200	146	43	18	101	107	64	37	35	107	140	72	39	19
Myel	191	228	178	135	105	94	194	126	129	115	96	258	123	143	178	128
Meta	69	54	47	47	45	32	62	47	40	22	2	52	67	44	42	25
Stab	334	190	106	105	59	112	199	134	107	49	56	152	135	127	63	86
Seg	316	213	276	418	311	402	187	342	344	269	339	267	416	478	492	562
Mono	15	31	86	158	150	326	18	41	110	136	334	27	108	157	234	439
Summe	1009	888	915	1035	718	982	779	801	798	630	860	884	995	1022	1048	1257
Ly	270	274	325	334	367	365	268	289	297	321	396	215	319	294	324	373
Summe abs.	1975	1663	1538	1613	1267	1750	1525	1313	1250	1033	1600	1550	1538	1463	1600	2075

relative Anteile %

	Kontrolle						Roacutan^{R}					Tigason^{R}				
Tage	0	1-2	3-4	5-7	8	10	1-2	3-4	5-7	8	10	1-2	3-4	5-7	8	10
Mb	3,0	3,9	2,6	2,5	0,7		2,3	0,5	0,5			2,4	0,6			
Prom	5,5	15,5	21,9	14,1	6,0	1,8	13,0	13,1	8,0	6,0	4,o	12,1	14,1	7,1	3,7	1,5
Myel	18,9	25,6	19,4	13,0	14,6	9,5	24,9	15,4	16,1	18,3	11,1	29,2	12,4	14,0	17,0	10,1
Meta	6,8	6,1	5,1	4,5	6,2	3,2	8,0	5,7	5,0	3,5		5,9	6,8	4,3	4,0	1,9
Stab	33,0	21,4	11,5	10,1	8,3	11,4	25,6	16,3	13,4	7,7	6,7	17,1	13,6	12,4	6,0	6,8
Seg	31,5	24,0	30,1	40,4	43,3	40,9	24,0	41,7	43,2	42,8	39,4	30,1	41,8	46,8	47,0	44,7
Mono	1,5	3,5	9,3	15,2	20,9	33,2	2,2	7,3	13,8	21,6	38,8	3,1	10,8	15,3	22,3	34,9

Knochenmarkkulturen Nr.1 - 4
gezählte Zellzahlen der Granulo- und Lymphopoese Tab.16

	Kontrolle		Roacutan®		Signifikanz	
Tage	3-4	5-7	3-4	5-7	3-4	5-7
Mb	110	91	40	31	++	++
Prom	922	506	753	409	++	++
Myel	883	512	839	772	-	+
Meta	258	177	262	235	-	-
Gb	2173	1286	1894	1447	++	++
Stab	626	427	856	586	++	-
Seg	1572	1391	1856	2077	++	++
Mono	447	877	234	956	++	++
Gz	2645	2695	2946	3619	++	++
Gb + Gz	4818	3981	4840	5966		
Ly	1678	1706	1800	1821	-	++
Summe	7634	6265	7820	7637		
Mitosen	21	5	19	4	-	-

	Kontrolle		Tigason®		Signifikanz	
Tage	3-4	5-7	3-4	5-7	3-4	5-7
Mb	110	91	44	18	++	++
Prom	922	506	813	445	+	++
Myel	833	512	817	869	-	-
Meta	258	177	297	241	-	-
Gb	2173	1286	1971	1393	++	++
Stab	626	427	638	632	-	-
Seg	1572	1391	1920	2267	++	++
Mono	447	877	298	1064	++	(-)
Gz	2645	2695	2856	3963	++	++
Gb + Gz	4818	3981	4827	5356		
Ly	1678	1706	1678	1881	-	++
Summe	7634	6265	7748	7914		
Mitosen	21	5	22	5	-	-

Diskussion

Die von uns verwendete Suspensionskulturtechnik hat gegenüber der semisoliden Knochenmarkkultivierung den Vorteil, daß die absolute Gesamtzahl der Zellen pro µl gezählt werden kann als zusätzliches Kriterium zur Differentialzählung (11). Es sind somit quantitative Aussagen über das Zellverhalten während einer bis zu 10 Tagen dauernden Inkubation in einem flüssigen Medium zu erhalten.

Eine bestimmte Zelldichte ist von Bedeutung für ein optimales Zellwachstum (7). Wir haben eine Zelldichte von ca. 2000 Zellen pro µl angestrebt. Geringere Zelldichten zeigen eine Tendenz zur Makrophagenproduktion (54). Die Knochenmarkkultur Nr. 3, mit einer geringen Ausgangszellzahl, zeigte einen starken Untergang der Zellen, einen relativ hohen Anteil an Makrophagen und konnte nach dem 7. Tag nicht mehr differenziert werden.

Versucht man Arbeiten zu vergleichen, die in der Literatur erschienen sind und sich mit der Einwirkung von Retinoiden auf Knochenmarkzellen beschäftigen, stellt man fest, daß die beschriebenen Versuche unter verschiedenen in-vitro-Bedingungen und mit unterschiedlichen Konzentrationen zwischen 1 nMol und 10 µMol (16, 17, 18, 19, 22, 23, 24, 26, 45, 46) erfolgten. Unsere Konzentrationen liegen mit 100 µMol/l deutlich höher.

In allen Kulturen, sowohl in den Kontrollkulturen, als auch in den Kulturen mit Retinoid-Zusatz nehmen die Erythroblasten bereits nach dem 1. bzw. 2. Tag rasch ab. Es finden sich ab 3.- 4.Tag überwiegend oxyphile und reife Erythroblasten (10, 11) und keine Mitosen. Die Proliferationskinetik der Erythropoese kann daher bei der Beurteilung der Wirkung von Retinoiden nicht berücksichtigt werden.

Die Veränderungen der Proliferationskinetik der Granulopoese werden durch den direkten Vergleich der Konrolikultur mit der Retinoid-Kultur beschrieben.

Die Mitosehäufigkeit in der Granulopoese ist bei unveränderter karyologischer Kurve unter Roacutan^{R}-Zusatz nicht signifikant verändert. Mitotische Zellteilungen führen zu einer Vermehrung der Zahl granulopoetischer Zellen. Die Differenzierung (Reifung) hat jedoch eine Verminderung teilungsfähiger Zellen zur Folge. Bei der Granulopoese ist somit der Mitoseindex ein Maß für die Zellverdoppelung und kein Maß für die Proliferationsaktivität wie bei nicht differenzierenden Geweben (8).

Weiterhin ergibt sich eine hochsignifikante Verringerung der Zahl an teilungsfähigen Granuloblasten und damit eine Verkleinerung des Reifungsindex vom 3. bis zum 7. Kulturtag unter Roacutan^{R}-Zusatz. Insbesondere kommt es zu einer Zunahme von stab- und segmentkernigen Granulozyten auf Kosten von Myeloblasten, Promyelozyten und Myelozyten. Projiziert auf in-vivo-Verhältnisse, bei denen die reifen Granulozyten aus dem Knochenmark ausgeschwemmt werden (11), kommt es unter Roacutan^{R} zu beschleunigter Ausreifung.

Im Gegensatz zu Versuchen anderer Autoren, bei denen es auch zur Differenzierung zu Makrophagen kommt (24), ergibt sich in unseren Kulturen, mit Ausnahme der Kultur Nr. 2,eine Verringerung der Zahl von Monozyten / Makrophagen in den mittleren Tagen unter Roacutan^{R}. In den späten Kulturtagen erhöht sich dann die Anzahl der Makrophagen wieder, mit Ausnahme der Kultur Nr. 3, die dann nicht mehr zu beurteilen war.

Die Lymphozytenzahl nimmt in den Roacutan^{R}-Kulturen an den mittleren Kulturtagen signifikant ab. In der Literatur wird über eine Hemmung der DNS-Synthese in lymphoiden Zellen berichtet (44, 51).

Die beschriebenen Versuche bestätigen Untersuchungen aus der Literatur, die über die Differenzierungsförderung leukämischer und normaler granulopoetischer Zellen unter Einwirkung von Roacutan^{R} berichten (18, 23, 24).

Die parallel zu den Roacutan^{R}-Versuchen angesetzten Knochenmarkkulturen mit Tigason^{R}-Zusatz zeigen ebenso keine signifikante Veränderung der Mitosenhäufigkeit bei unveränderter karyologischer Kurve.

Es kommt unter Tigason^{R} wiederum zu einer signifikanten Abnahme der Anzahl an teilungsfähigen Granuloblasten, insbesondere der Myeloblasten und zu einer deutlichen Zunahme der Zahl von segmentkernigen Granulozyten. Diese Ergebnisse sprechen für eine Differenzierung der unreifen zu reifen Zellen.

Die in den ersten Kulturtagen verringerte Zahl an Monozyten nimmt in der Tigason^{R}-Kultur gegen Ende zu.

Die Lymphozytenzahl nimmt unter Tigason^{R} ab, in der Kultur Nr. 4 nimmt sie an den frühen und späten Tagen wieder zu. Einige Autoren berichten über eine Hemmung der DNS-Synthese in Lymphozytenkulturen unter Einwirkung von Tigason^{R} (3, 44, 51).

Nicht nur leukämisches Knochenmark, sondern auch normales Knochenmark kommt unter Tigason ^{R} zur Ausreifung. Tigason^{R} wirkt isoliert auf die Reifung der Granulopoese und zeigt keine Wirkung auf die Zellteilung.

In der Literatur wird eine geringere Wirkung von Tigason^{R} auf das Wachstum von Granulozyten-Makrophagen-Kolonien, entstanden aus normalen Knochenmarkstammzellen in Agarkulturen im Vergleich zu Roacutan^{R} beschrieben (24). Unsere Untersuchungen zeigen in die gleiche Richtung. Roacutan^{R} bewirkt eine deutlichere Verringerung der Anzahl an Granuloblasten bis hin zu den Myelozyten und eine ausgeprägtere Vermehrung der stabkernigen Granulozyten im Vergleich zu Tigason^{R}.

Die beiden neuen synthetischen Retinoide sind in relativ hoher Konzentration in der Lage, die Granulopoese von normalem menschlichen Knochenmark in vitro zur Differenzierung anzuregen und die Lymphopoese etwas zu unterdrücken. Die differenzierungsfördernde Wirkung auf granulopoetische Zellen ist unter Zusatz von Roacutan^{R} stärker als unter Tigason^{R}.

Zusammenfassung

Knochenmarkkulturen von annähernd normalem menschlichen Knochenmark wurden unter Zugabe von 13-cis-Retinsäure (Roacutan^{R}) bzw. aromatischem Retinoid (Tigason^{R}) in einer Konzentration von jeweils 100 µMol/l in Suspensionkultur bis zu 10 Tagen inkubiert. In regelmäßigen Abständen wurden Austriche hergestellt und mit ihrer Hilfe proliferationskinetische Daten bestimmt.

Es ergab sich eine hochsignifikante Verringerung der Zahl von Granuloblasten zugunsten der teilungsfähigen Granulozyten unter Einwirkung von beiden synthetischen Retinoiden vom 3. bis zum 7. Kulturtag, also eine deutliche Ausreifung der Granulopoese. Die Mitosehäufigkeit blieb hingegen unbeeinflußt.

13-cis-Retinsäure (Roacutan^{R}) hatte eine etwas ausgeprägtere Wirkung auf die Ausreifung von granulopoetischen Vorläuferzellen als aromatisches Retinoid (Tigason^{R}).

Die Lymphozytenzahl nahm unter beiden Retinoiden in den mittleren Kulturtagen ab.

Die Erythropoese blieb weitgehend unbeeinflußt.

Literaturverzeichnis

1. ABB, J.
DEINHARDT, F.
Retinoid - induced Growth Inhibition of Herpes - virus - transformed Marmoset Lymphoblastoid Cell Lines.
Oncology 38 (6), 346 (1981)

2. BARNETT, J.B.
Immunomodulating Effects of 13 - cis - Retinoic Acid on the IgE Response of BALB / c Mice.
Int. Archs Allergy appl. Immun. 69, 368 (1982)

3. BAUER, R.
ORFANOS, C. E.
Trimethylmethoxyphenyl - retinoic acid (Ro 10-1670) inhibits mitogen - induced DNA - synthesis in peripheral blood lymphocytes in vitro.
Brit. J. Derm. 105, 19 (1981)

4. BAUER, R.
SCHÜTZ, R.
ORFANOS, C. E.
Granulozyten - Migration in Vitro bei Psoriasis - Patienten unter aromatischem Retinoid.
Z. Hautkr. 57 (17), 1247 (1982)

5. BELITZ, H. J.
Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie.
In: Der Mathematikunterricht, Heft 3 / 60,
Ernst Klett Verlag, Stuttgart (1960)

6. BOLL, I.
Granulozytopoese - Morphologie, Physiologie, Kinetik und Funktion.
In: Handbuch der Inneren Medizin, Band II / 3
Leukozytäres und retikuläres System I
Herausgegeben von H. BEGEMANN
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1976)

7. BOLL, I.
Knochenmarkkulturen.
In: Das Knochenmark , Herausgeber W. QUEISSER
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1978)

8. BOLL, I.
Das granulozytäre Zellsystem.
In: Das Knochenmark, Herausgeber W.QUEISSER
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1978)

9. BOLL, I.
Zytologische Knochenmarkdiagnostik.
Zweite, neubearbeitete Auflage
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1980)

10. BOLL, I.
COLLMANN, H.
AUST, C.
Quantitative Bestimmung der Proliferationskinetik des menschlichen Knochenmarks während drei Kulturtagen.
Blut 31, 201 (1975)

11. BOLL, I.
FUCHS, G.
Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro.
Blut 7, 257 (1961)

12. BOLL, I.
MERSCH, G.
Morphologische Untersuchungen zur Proliferations - kinetik der normalen und pathologischen Granulozytopoese in vitro.
Blut 19, 257 (1969)

13. BOLLAG, W.
Prophylaxis of Chemically Induced Epithelial Tumors with an Aromatic Retinoic Acid Analog (Ro 10 - 9359).
Eur. J. Cancer 11, 721 (1975)

14. BRAUN - FALCO, O
PLEWIG, G
WOLFF, H. H.
Dermatologie und Venerologie.
Dritte, neubearbeitete Auflage
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo (1984)

15. BRAUN - FALCO, O
GALOSI, A
DORN, M.
PLEWIG, G.
Tumorprophylaxe bei Xeroderma pigmentosum mit aromatischem Retinoid (Ro 10 - 9359) .
Der Hautarzt 33, 445 (1982)

16. BREITMAN, T. R.
COLLINS, S. J.
KEENE, B. R.
Terminal differentation of human promyelocytic leukemic cells in primary culture in response to retinoic acid.
Blood 57 (6), 1000 (1981)

17. BREITMAN, T. R.
GALLO, R. C.
New facts and speculations on human myeloid leukemias.
Blood Cells 7, 79 (1981)

18. BREITMAN, T. R.
SELONICK, S. E.
COLLINS, S. J.
Induction of differentiation of the human pro - myelocytic leukemia cell line (HL 60) by retinoic acid.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 2936 (1980)

19. BREWER, G.
HNILICA, L. S.
BLOCH, D.
MCARTHUR, B.
BRIGGS, R. C.
Effects of retinoic acid treatment on the HL 60 human myeloid leukemia cell line.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. Vol. 23, 37 (1982)

20. BUDDECKE, E.
Grundriss der Biochemie.
Sechste, neubearbeitete Auflage
Walter de Gruyter Verlag, Berlin, New York (1980)

21. DENNERT, G.
LOTAN, R.
Effects of retinoic acid on the immune system: Stimulation of T killer cell induction.
Eur. J. Immunol. 8, 23 (1978)

22. DOUER, D.
KOEFFLER, H. P.
Retinoic acid enhances colony - stimulating factor - induced clonal growth of normal human myeloid progenitor cells in vitro.
Exp. Cell Res. 138, 193 (1982)

23. DOUER, D.
KOEFFLER, H. P.
Retinoic acid. Inhibition of the clonal growth of human myeloid leukemia cells.
J. Clin. Invest. 69, 277 (1982)

24. DOUER, D.
KOEFFLER, H. P.
Regulation of proliferation of normal and leukemic myeloid cells by retinoic acid in vitro.
Exp. Hematol. 9, 195 (1981)

25. DUBERTRET, L.
LEBRETON, C.
TOURAINE, R.
Inhibition of neutrophil migration by etretinate and its main metabolite.
Brit. J. Derm. 107, 681 (1982)

26. FERRERO, D.
TARELLA, C
GALLO, E. et al
Terminal differentation of the human promyelocytic cell line, HL 60, in the absence of cell proliferation. Cancer Res. 42, 4421 (1982)

27. GEIGY DOCUMENTA
Wissen schaftliche Tabellen.
J. R. GEIGY, Basel (1960)

28. GILLENBERG, A.
IMMEL, C.
ORFANOS, C. E.
Retinoid - Einfluß aufdie Zellkinetik gesunder menschlicher Epidermis.
Arch. Dermatol. Res. 269, 331 (1980)

29. GOLLNICK, H.
LULEY, C.
SCHWARTZKOPFF, W.
ORFANOS, C. E.
Veränderungen von Serumlipidfraktionen als Nebenwirkungen oraler Retinoide.
Z. Hautkr. 57, 1255 (1981)

30. GOUVEIA, J. et al
Degree of bronchial metaplasia in heavy smokers and its regression after treatment with a retinoid.
The Lancet, March 27, (1982)

31. GROSS, R.
SCHÖLMERICH, P.
Lehrbuch der Inneren Medizin.
Sechste völlig neu bearbeitete Auflage
Schattauer Verlag, Stuttgart (1982)

32. HOFFMANN-LA ROCHE
Kurzinformation über das Prüfpräparat Ro 10-9359 (aromatisches Retinoid) Tigason. (1981)

33. HOFFMANN-LA ROCHE
Kurzinformation über das Prüfpräparat Ro 4-3780 (13-cis-Retinsäure) Roacutan. (1982)

34. KATO, T.
WOKALEK, H.
ERNST. M.
SCHOEPF, E.
Influence of 13 - cis retinoic-acid on zymosan - induced chemi luminescence of granulocytes.
Arch. Dermatol. Res. 271, 205 (1981)

35. KESSLER, J. F.
MEYSKENS, F. L. Jr
LEVINE, N. et al
Treatment of cutaneus T-cell lymphoma (mycosis fungoides) with 13 - cis - retinoic acid.
The Lancet, June 18 (1983)

36. LANDTHALER, M.
KUMMERMEHR, J.
WAGNER, A.
PLEWIG, G.
Inhibitory Effects of 13 - cis - retinoic Acid on Human Sebaceous Glands.
Arch. Dermatol. Res. 269, 297 (1980)

37. LOTAN, R.
NICOLSON, G. L.
Inhibitory Effects of Retinoic Acid or Retinyl Acetate on the Growth of Untransformed, Trans - formed, and Tumor Cells in Vitro.
J. Natl. Cancer Inst. 59, 1717 (1977)

38. MAHRLE, G.
THIELE, B.
IPPEN,H.
Chemotherapie kutaner T-Zell-Lymphome mit Arotinoid.
Dtsch. med. Wschr. 108, 1753 (1983)

39. MASTRO, A. M.
PEPIN, K. G.
The effects of retinoic acid and a tumor pro - motor,12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate on lymphocyte proliferation.
Carcinogenesis 3 / 4 , 409 (1982)

40. MEYSKENS, F. L. Jr
SALMON, S. E.
Inhibition of Human Melanoma Colony Formation by Retinoids.
Cancer Res. 39, 4055 (1979)

41. MEIGEL, W.
GOLLNICK,H.
WOKALEK, H.
PLEWIG, G.
Orale Behandlung der Acne conglobata mit 13 - cis - Retinsäure.
Der Hautarzt 34, 387 81983)

42. NIKOLOWSKI, J.
PLEWIG, G.
Orale Behandlung der Rosazea mit 13-cis Retinsäure.
Der Hautarzt 32,575 81981)

43. NIKOLOWSKI, J.
PLEWIG, G.
HOFMANN, C.
In - vivo - Tests zum Nachweis der anti - inflammatorischen Wirkung der 13-cis-Retinsäure.
Dermatol. Monatschr. 168, 173 (1982)

44. NORDLIND, K.
THYBERG, J.
In vitro Effects of 13-cis-Retinoic Acid (Ro 4-3780) and Etretinate (Ro 10-9359)on DNA Synthesis and Fine Structure of Guinea Pig and Human Lymphoid Cells.
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 71, 363 (1983)

45. OLSSON, I. L.
BREITMAN, T. R.
Induction of differentation of the human histio - cytic lymphoma cell line U-937 by retinoic acid and cyclic adenosine 3':5'-monophosphate - in - ducing agents.
Cancer Res. 42, 3924 (1982)

46. OLSSON, I. L.
BREITMAN, T. R.
GALLO, R. C.
Priming of human myeloid leukemic cell lines HL-60 and U-937 with retinoic acid for differentation effects of cyclic adenosine 3':5'-monophosphate-inducing agents and a T-lymphocyte-derived differentation factor.
Cancer Res. 42, 3928 (1982)

47. ORFANOS, C. E.
Oral retinoids - present status.
Brit. J. Derm. 103, 473 (1980)

48. ORFANOS, C. E.
BAUER, R.
Evidence for anti-inflammatory activities of oral synthetic retinoids: experimental findings and clinical experience.
Brit. J. Derm. 109, 55 (1983)

49. PEHAMBERGER, H.
ESCA, A
HOLUBAR, K.
Behandlung hyperkeratotischer Dermatosen mit einem oralen, aromatischen Retinoid (Ro 10-9359).
Z. Hautkr. 55, 68 (1980)

50. PLEWIG, G.
Der Einfluß des aromatischen Retinoids Ro 10-9359 und der 13-cis-Retinsäure Ro 4-3780 auf die Talgdrüsen des Syrischen Hamsters.
Arch.Dermatol. Res. 268, 239 (1980)

51. SKINNIDER, L. F.
GIESBRECHT, K.
Inhibition of phorbol myristate acetate and phythemagglutinin stimulation of human lymphocytes by 13-cis-retinoic acid and ethyl etrinoate.
Experienta 37, 1345 (1981)

52. SPORN, M. B.
DUNLOP, N. M.
Newton, D. L.
SMITH, J. M.
Prevention of chemical carcinogenesis by vitamin A and its synthetic analogs (retinoids).
Fed. Proc. 35, 1332 (1976)

53. STRICKLAND, S.
MAHDAVI, V.
The Induction of Differentation in Terato - carcinoma Stem Cells by Retinoic Acid.
Cell. Vol. 15, 393 (1978)

54. SUMNER, M. A.
BRADLEY, T. R.
HODGSON, G. S.
CLINE, M. J.
FRY, P. A.
SUTHERLAND, L.
The Growth of Bone Marrow Cells in Liquid Culture.
Br. J. Haemat. 23, 221 (1972)

55. TAKENAGA, K.
HONMA, Y.
HOZUMI, M
Cellular retinoid-binding proteins in cultured human and mouse myeloid leukemia cells.
Cancer Lett. 13, 1 (1981)

56. TSAMBAOS, D.
HUNDEIKER, M.
MAHRLE, G
ORFANOS, C. E.
Reversible Spermatogenesestörung durch aromatisches Retinoid bei Meerschweinchen.
Arch. Dermatol. Res. 267, 153 (1980)

57. TSAMBAOS, D.
ORFANOS, C. E.
Ultrastructural evidence suggesting an immuno - modulatory activity of oral retinoid. Its effect on dermal components in psoriasis.
Brit. J. Derm. 104, 37 (1981)

58. TSAMBAOS, D.
ORFANOS, C. E.
Chemotherapy of psoriasis and other skin disorders with oral retinoids.
Parmac. Ther. Vol. 14, 355 (1981)

59. UNDRITZ, E.
Sandoz Atlas of Haematology.
Second, revised and enlarged edition
Published by Sandoz (1973)

Danksagung

Frau Prof. Dr. med. Irene Boll danke ich für die Überlassung des Themas und die großzügige Förderung meiner Arbeit.

Lebenslauf

geboren am	24. Februar 1955
in	Sanderbusch (Landkreis Friesland)
Eltern	Dr. med. Günter Völkel
	Dr. med. Anna Völkel, geb. Stroemer
Schulen	1961 - 1965 Grundschule Bockhorn
	1965 - 1969 Gymnasium Varel
	1969 - 1973 Gymnasium Westerstede
	Abitur 17. Mai 1973
Ausbildung	1973 - 1976 zum Krankenpfleger am
	Städtischen Krankenhaus Spandau
Berufstätigkeit	1976 - 1978 als Krankenpfleger
Studium	der Humanmedizin ab Oktober 1978
	an der Universität Essen, Wechsel
	nach dem 2. Semester an die FU Berlin
	1980 Physikum
	1981 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
	1983 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
	1984 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
	Approbation am 6. November 1984

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen